



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina**

**Escuela Profesional de Tecnología Médica**

## **Portadores sanos de Staphylococcus aureus enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017**

### **TESIS**

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología  
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

### **AUTOR**

Wilder Heysen GONZALES TUME

### **ASESOR**

Lic. Carlos Raúl SEVILLA ANDRADE

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Gonzales, W. Portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017 [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2019.

---

## HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

**CÓDIGO ORCID DEL AUTOR:** <https://orcid.org/0000-0001-6918-0722>

**CÓDIGO ORCID DEL ASESOR O ASESORES:** <https://orcid.org/0000-0001-9938-9922>

**DNI DEL AUTOR:** 45961633

**GRUPO DE INVESTIGACIÓN:** No pertenece

**INSTITUCIÓN QUE FINANCIA PARCIAL O TOTALMENTE LA INVESTIGACIÓN:**

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**UBICACIÓN GEOGRÁFICA DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN. DEBE INCLUIR LOCALIDADES Y COORDENADAS GEOGRÁFICAS**

**DIRECCIÓN:** Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Av. Universitaria /Calle Germán Amezaga 375.

**LATITUD:** 12° 03' 30" S

**LONGITUD:** 77° 05' 00" W

**AÑO O RANGO DE AÑOS QUE LA INVESTIGACIÓN ABARCÓ:** Setiembre 2017 - agosto 2019



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina  
Escuela Profesional de Tecnología Médica



"AÑO DE LA LUCHA CONTRA LA CORRUPCIÓN E IMPUNIDAD"

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Conforme a lo estipulado en el Art. 113 inciso C del Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (R.R. No. 03013-R-16) y Art. 45.2 de la Ley Universitaria 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Dirección de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Blga. Irma Adalberto Espinoza Blanco  
Miembros: Q.F Rosa Lorenza Oriondo Gates  
Mg. Esther Lidia Valencia Bazalar  
Asesor : Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 06 de setiembre del 2019, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"PORTADORES SANOS DE *Staphylococcus aureus* ENTEROTOXIGÉNICO EN MANIPULADORES DE ALIMENTOS DE LA CIUDAD UNIVERSITARIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. 2017"**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Señor:

**WILDER HEYSEN GONZALES TUME**

Habiendo obtenido el calificativo de:

15  
(En números)

Quince  
(En letras)

Que corresponde a la mención de: Buena

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

Irma Espinoza B  
Presidente

Blga. Irma Adalberto Espinoza Blanco

Rosa Oriondo G  
Miembro

Q.F Rosa Lorenza Oriondo Gates

Esther Valencia B  
Miembro

Mg. Esther Lidia Valencia Bazalar



CR  
Asesor de Tesis

Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade

***Dedicado***

*A mi padre Rómulo Visitación Gonzales Soria*

*A mi madre Andrea Tume Ruíz*

*A mi hermano Alexander Rogger Gonzales Tume*

*A mi hermano Dayer Nay Gonzales Tume*

*A mi abuela Rosa Ruíz Nunura*

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres por todo el apoyo brindado en mi vida personal y profesional, por estar los momentos más difíciles, por el amor, la paciencia y comprensión. Gracias a mis hermanos por sus consejos y por brindarme un poco de su tiempo en ayudarme cuando los necesité.

A mis tíos, primos y amigos que siempre me aconsejaron y apoyaron para culminar mi carrera universitaria. En especial a mi amigo Luis Eduardo Velásquez Reyes por su amistad sincera y todo el apoyo brindado durante la ejecución de mi tesis.

A la Lic. Carmen Cristina Aranda Dextre y Lic. Yorita Vargas Gonzales por motivarme a concluir mi carrera universitaria y por todo el apoyo brindado durante mi grata estadía en la Clínica Universitaria Servicios Médicos.

Al Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade por aceptar ser mi asesor, por su tiempo, apoyo, orientación, generosidad y paciencia durante la ejecución del presente trabajo.

A la Dra. Hilda Solis Acosta Directora del Departamento Académico de Microbiología Médica y a la Dra. Vilma Béjar Castillo Directora del Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión por su colaboración en el préstamo de las instalaciones del Laboratorio del Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión.

Al Dr. Jorge Alarcón Villaverde Director del Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM) y MSc Milagros Zavaleta Apestegui coordinadora de Investigación de Biotecnología y Salud - CITBM por su colaboración y facilidades en el LEMyG - CITBM para la ejecución de esta tesis.

A la Lic. Esther Valencia Bazalar por apoyarme durante la ejecución de esta tesis, por su paciencia, tiempo y dedicación.

Al personal técnico del Departamento Académico de Microbiología Médica Sra. Albina Arangues Tenemas, Srta. Ana María Arangues Tenemas, Sr. Gregory Marca Bocanegra gracias por todo el apoyo brindado durante la ejecución de esta tesis.

A los todos los participantes del estudio por su colaboración voluntaria, su apoyo fue indispensable para la realización de esta tesis.

A la Srta. Ortiz Huiza Renatta Rebeca Rafaella estudiante de Lingüística de la Facultad de Letras de la UNMSM por la revisión lingüística de esta tesis.

Agradecer al Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales – CITBM, por el apoyo brindado a través de sus investigadores y el soporte tecnológico.

Agradecer al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento de fondos concursables para tesis de pregrado. Proyecto Código A17010384b (2017).



## ÍNDICE

1.	CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	1
1.1.	DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES.....	2
1.2.	IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN .....	4
1.3.	OBJETIVOS .....	5
1.3.1.	OBJETIVO GENERAL .....	5
1.3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
1.4.	BASES TEÓRICAS .....	6
1.4.1.	BASE TEÓRICA .....	6
1.4.2.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS: .....	18
1.4.3.	FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....	18
2.	CAPÍTULO II: MÉTODOS .....	19
2.1.	DISEÑO METODOLÓGICO .....	20
2.1.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	20
2.1.2.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	20
2.1.3.	POBLACIÓN .....	20
2.1.4.	MUESTRA Y MUESTREO .....	20
2.1.4.1.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	20
2.1.4.2.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	21
2.1.5.	VARIABLES .....	21
2.1.6.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	22
2.1.7.	PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS .....	22
2.1.8.	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	27
3.	CAPÍTULO III: RESULTADOS .....	28
4.	CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN .....	37
5.	CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	41
5.1.	CONCLUSIONES .....	42
5.2.	RECOMENDACIONES .....	43
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44

## LISTA DE TABLAS

**TABLA N°1:** Características de las enterotoxinas estafilocócicas.

**TABLA N°2:** Factores que influyen en el crecimiento de *S. aureus* y la producción de sus enterotoxinas.

**TABLA N°3:** Cebadores (*primers*) utilizados en la PCR convencional.

**TABLA N°4:** Protocolo *sea* para la elaboración de la Master Mix.

**TABLA N°5:** Protocolo de amplificación *sea*.

**TABLA N°6:** Establecimiento de procedencia de los participantes.

**TABLA N°7:** Ocupación de los manipuladores de alimentos.

**TABLA N°8:** Porcentaje de aislamiento de *S. aureus* y SCN según el tipo de muestra.

**TABLA N°9:** Lectura de absorbancias para identificación de enterotoxinas mediante kit RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E.

## LISTA DE GRÁFICOS

**GRÁFICO N°1:** Estructura de la Enterotoxina A.

**GRÁFICO N°2:** Unión de un superantígeno y un antígeno convencional.

**GRÁFICO N°3:** Sexo de los manipuladores de alimentos.

**GRÁFICO N°4:** Frecuencia de edades de los manipuladores de alimentos.

**GRÁFICO N°5:** Procedencia de los manipuladores de alimentos.

**GRÁFICO N°6:** Frecuencia de portadores de *S. aureus* según género.

**GRÁFICO N°7:** Frecuencia de portadores de *S. aureus* según grupo etario.

**GRÁFICO N°8:** Resistencia antimicrobiana en aislamientos de *S. aureus*.

## RESUMEN

**Introducción:** Los manipuladores de alimentos que no cumplen con las normas de las buenas prácticas de manufactura alimenticia pueden contaminar los alimentos con *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico. El hallazgo de *S. aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos permitirá brindar información y contribuir con medidas de mejora en prevención y control de potenciales intoxicaciones alimentarias.

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**Materiales y métodos:** Se planteó un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal. Se realizaron hisopados nasales y enjuague de manos de 80 manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la UNMSM. Los aislamientos de *S. aureus* se realizaron en los laboratorios del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión”, se determinó la resistencia antimicrobiana del *S. aureus* a determinados antibióticos utilizados en la práctica clínica y se identificaron sus enterotoxinas mediante Elisa y PCR convencional.

**Resultados:** Se analizaron 160 muestras (hisopado nasal y enjuague de manos) de 80 manipuladores de alimentos. Se aislaron 146 cepas de *Staphylococcus*, 2,7% (4/146) fueron *S. aureus* y 97,3% (142/146) resultaron *Staphylococcus* coagulasa negativo. El análisis de sensibilidad antibiótica del *S. aureus* determinó 100% de sensibilidad a eritromicina, clindamicina y meticilina. La resistencia a la penicilina fue del 100% y un 25% de resistencia al trimetopim/sulfametoxazol. Se identificaron mediante ELISA las enterotoxinas A, E en una cepa aislada de una muestra de hisopado nasal 25,0% (1/4), y mediante la PCR convencional los aislamientos encontrados de la misma muestra de hisopado nasal mostraron que un 25,0% (1/4) portaba en el gen *sea*.

**Conclusiones:** Se concluye que la frecuencia de portadores sanos de *S. aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Marcos es baja (1,3%) con respecto a otros estudios realizados en Latinoamérica.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, enterotoxinas, manipuladores de alimentos.

## ABSTRACT

**Introduction:** Food handlers who do not meet the standards of good food manufacturing practices can contaminate food with enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*. The finding of enterotoxigenic *S. aureus* in food handlers will provide information and contribute with measures to improve prevention and control of potential food poisoning.

**Objective:** To determine the frequency of healthy carriers of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food handlers of the University City of the National University of San Marcos.

**Materials and methods:** An observational, descriptive and cross-sectional study was proposed. Nasal swabs and hand rinsing were performed on 80 food handlers from the University City of the UNMSM. The isolations of *S. aureus* were carried out in the laboratories of the Institute of Tropical Medicine "Daniel Alcides Carrión", the antimicrobial resistance of *S. aureus* to determined antibiotics used in clinical practice and their enterotoxins were identified by Elisa and conventional PCR.

**Results:** 160 samples (nasal swab and hand rinse) from 80 food handlers were analyzed. 146 strains of *Staphylococcus* were isolated, 2,7% (4/146) were *S. aureus* and 97,3% (142/146) were negative *Staphylococcus* coagulase. The antibiotic sensitivity analysis of *S. aureus* determined 100% sensitivity to erythromycin, clindamycin and methicillin. 100% resistance to penicillin and 25% resistance to trimetropim / sulfamethoxazole. Enterotoxins A, E in an isolated strain of a nasal swab sample 25,0% (1/4) were identified by ELISA, and by conventional PCR the isolates found from the same nasal swab sample showed that 25,0% (1/4) carried in the gene *sea*.

**Conclusions:** It is concluded that the frequency of healthy carriers of enterotoxigenic *S. aureus* in food handlers of the University City of the National University of San Marcos is low (1,3%) compared to other studies conducted in Latin America.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, enterotoxins, food handlers.

# **1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

## 1.1.DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) constituyen un problema en la salud pública, estas se encuentran diseminadas tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. *Staphylococcus aureus* es el principal agente etiológico involucrado en las intoxicaciones de origen alimentario <sup>(1)</sup>.

*S. aureus* es una bacteria patógena asociada a múltiples cuadros infecciosos y brotes de ETAs. Forma parte de la microflora humana, siendo entre el 30-50% de la población portadora de esta bacteria. Las fosas nasales del ser humano son la fuente principal de *S. aureus*, aunque también se encuentra en la piel, heridas infectadas, quemaduras, tracto urogenital, gastrointestinal, en casi todo el cuerpo y sus secreciones <sup>(2,3)</sup>. En cuanto a la frecuencia de *S. aureus* en manipuladores de alimentos, una investigación realizada en Chile, por Figueroa Guillermo y col. en el año 2002, reporta un 34% de aislamientos de *S. aureus* en muestras de hisopado retrofaríngeo <sup>(4)</sup>.

La contaminación de los alimentos con *S. aureus* se asocia a la manipulación de alimentos, el incumplimiento de reglamentos sobre prácticas de manufactura alimenticia y la utilización de materia prima contaminada. Sin embargo, la presencia de *S. aureus* no es suficiente para incriminarlo como sospechoso de producir Intoxicación Alimentaria Estafilocócica (IAE), es importante detectar si produce alguna enterotoxina <sup>(1,5)</sup>.

En trabajos realizados hasta la fecha se han descrito 22 enterotoxinas estafilocócicas (SE) que se designan como SEA a SE/V2, en orden cronológico a su descubrimiento <sup>(6)</sup>. En Sao Paulo, Mamprim Filho y col, en el año 2006, realizaron hisopados nasales y de manos de 82 manipuladores de alimentos, reportando a la enterotoxina A (SEA) como la más frecuente (35,4%), seguido de SEH y SEJ <sup>(7)</sup>.

No solo la presencia del *S. aureus* y la producción de sus enterotoxinas son de preocupación, la resistencia que presentan estas bacterias contra los antimicrobianos es un problema de salud a nivel mundial. En estudios realizados por Williani Fabíola Grando y col, en el año 2008, aislaron 19 cepas de *S. aureus* en manos y cavidad nasal, el mayor índice de resistencia fue a la penicilina G (78,95%), seguido de la tetraciclina (26,31%); el mayor índice de sensibilidad fue observado para la nitrofurantoína, sulfazotrim,

rifampicina y vancomicina (100%), seguido por la oxacilina (94,73%) y ciprofloxacina (89,47%) <sup>(8)</sup>.

En Brasil, Suzana Claudia Silveira Martins y col, en el año 2009, evaluaron el perfil de resistencia de *Staphylococcus coagulasa* positivo (SCP) aislado de las manos de manipuladores de alimentos, encontrando que 89% de los aislados eran resistentes a la ampicilina y penicilina 86,6%. Con relación a sensibilidad, 100% fueron sensibles a sulfazotrim, 98,8% nitrofurantoína, vancomicina 97,6%, 96,3% cloranfenicol y el 90,3% de ofloxacino. Se observó resistencia a múltiples fármacos en el 76% de los aislamientos <sup>(9)</sup>.

El desarrollo de nuevos fármacos y su uso indiscriminado ha favorecido el incremento de cepas resistentes. En los últimos años, la aparición de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) ha sido responsable del aumento del número de infecciones por este patógeno. Las cepas de SARM se aislaron inicialmente a nivel hospitalario, pero en los últimos años se han expandido a la comunidad, donde producen infecciones graves <sup>(10,11)</sup>.

Leyla Vatansever *et al*, en el año 2016, determinaron la resistencia a la meticilina de *Staphylococcus aureus* entre los manipuladores de alimentos. De los 282 aislamientos que obtuvieron, 56 eran *S. aureus* y ninguno poseía el gen *mecA*. La prueba de susceptibilidad antibacteriana para la resistencia a la meticilina, utilizando cefoxitina (30µg), muestra que todos los aislamientos fueron susceptibles a la meticilina <sup>(12)</sup>.

Considerando que hay pocos estudios que describen a *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de centros universitarios, se formula la siguiente pregunta: ¿Cuál es la frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el año 2017?



## 1.2.IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Los portadores sanos de *S. aureus* enterotoxigénico pueden ser reservorios que contaminen los alimentos durante la manipulación. La presencia de este microorganismo en los alimentos se asocia a la contaminación inducida por los manipuladores de alimentos, al incumplimiento de las normas sobre buenas prácticas de manufactura alimentaria o la utilización de materia prima contaminada.

La población portadora de *S. aureus* según estudios previos es del 30-50%, siendo muchos de ellos asintomáticos, la importancia de determinar la frecuencia de portadores sanos de *S. aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos sería poder brindar información y contribuir con medidas de prevención en la higiene personal y el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura alimentaria durante el procesamiento o distribución de alimentos, evitando la contaminación y la producción de sus enterotoxinas.

El propósito de este estudio es aislar e identificar *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en mucosa nasal y manos de manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con la finalidad de conocer la frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico.

## **1.3.OBJETIVOS**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

- ❖ Determinar la frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el año 2017.

### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ❖ Determinar la frecuencia de aislamientos de *Staphylococcus aureus* de las manos y mucosa nasal del personal manipulador de alimentos.
- ❖ Determinar la frecuencia de las enterotoxinas estafilocócicas en los manipuladores de alimentos.

## 1.4.BASES TEÓRICAS

### 1.4.1. BASE TEÓRICA

#### 1. IMPORTANCIA E IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* es una bacteria capaz de producir factores de virulencia y toxinas que pueden producir cuadros tóxicos. Esta bacteria, además, se encuentra muy distribuida en la naturaleza y es asociada a infecciones y brotes de ETAs <sup>(13)</sup>. Son cocos gram positivos, catalasa positivos, no formadores de esporas y suelen agruparse en racimos. Han sido clasificados en 23 especies y subespecies <sup>(14)</sup>.

*S. aureus* forma parte de la microflora humana y, en la población sana, el porcentaje de colonización por esta bacteria se encuentra entre 25-50%, constituyendo un riesgo por su diseminación <sup>(15)</sup>. Cuando se combinan factores de virulencia y disminución de las defensas del hospedero se pueden producir infecciones. En su acción intervienen componentes de la pared celular, enzimas y toxinas que favorecen la invasión tisular, además tienen la capacidad para diseminarse y multiplicarse en los tejidos del hospedero <sup>(2)</sup>.

Dentro de estos factores de virulencia tenemos la coagulasa producida por el *S. aureus* en sus dos formas: como coagulasa ligada (clumping factor [Clf]) y coagulasa libre. La coagulasa ligada en unión con la protrombina forma un complejo que convierte el fibrinógeno en fibrina, produciéndose una aglomeración de las células bacterianas. La coagulasa libre interactúa con el factor reactivo de la coagulasa (CRF), formando un complejo similar a la trombina que reacciona con el fibrinógeno formando el coágulo de fibrina <sup>(15)</sup>.

La coagulasa es un marcador de virulencia y permite diferenciar los estafilococos coagulasa positivos y los estafilococos coagulasa negativos. Su importancia radica en la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico y evitando la fagocitosis bacteriana <sup>(16)</sup>.

Para la identificación de *Staphylococcus* se puede emplear coloración gram, prueba de la catalasa y la fermentación de glucosa. Además, se puede utilizar la prueba de coagulasa para diferenciar estafilococos coagulasa positivos de los coagulasa negativo <sup>(15)</sup>.

La identificación de *S. aureus* mediante medios de cultivo se basan en enzimas y toxinas que produce el microorganismo, los medios utilizados para aislar esta bacteria son el agar manitol salado, el agar *Staphylococcus* N° 110 y el agar Baird-Parker <sup>(17)</sup>.

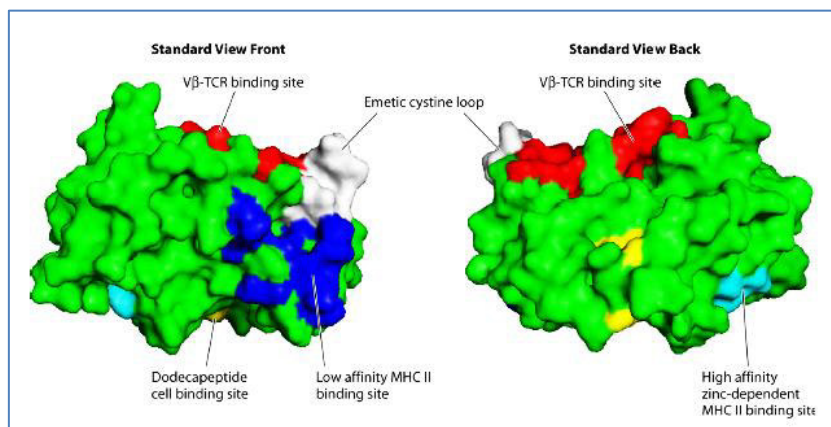
La identificación de *S. aureus* mediante técnicas de biología molecular ha permitido detectar genes específicos de especie, pero al ser muy laboriosas y de alto costo, no son muy utilizadas de forma rutinaria <sup>(15)</sup>.

## **2. ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS**

### **NOMENCLATURA DE LAS ENTEROTOXINAS**

Las enterotoxinas son proteínas globulares de cadena única con pesos moleculares que oscilan entre 22 y 29 kDa. Los estudios que han examinado la estructura cristalina de la enterotoxinas estafilocócicas proponen que la estructura general es elipsoide y presenta dos dominios: A, B. El dominio A es más grande y contiene aminoácidos amino y carboxi terminal. El dominio B es pequeño y común a otras enterotoxinas; existe un bucle disulfuro que se encuentra terminando el dominio. La presencia de un bucle disulfuro dentro del dominio terminal-NH<sub>2</sub> está implicado en las propiedades eméticas <sup>(18,19,20)</sup> **(Gráfico N°1).**

### Gráfico N°1: Estructura de la Enterotoxina A



(Fuente: Adam R. Spaulding, Wilmara Salgado Pabón et al, 2013) <sup>(20)</sup>

Desde la primera caracterización de SEA y SEB, se han descrito 22 enterotoxinas que se designan como SEA a SE/V2 en el orden cronológico de su descubrimiento, excepto para SEF que más tarde fue renombrado como Toxina del Síndrome del Shock Tóxico (TSST-1). Las toxinas recién descubiertas con más de 90% de identidad en su secuencia de aminoácidos con las enterotoxinas existentes o proteínas similares a estafilococos (SEs o SE/s) deben ser designados como un subtipo. Sin embargo, a pesar de esta nomenclatura de consenso algunos subtipos todavía se llaman simplemente variantes <sup>(18,6)</sup>.

El repertorio de SEs y SE/s de *S. aureus* comprende 22 miembros, excluyendo variantes moleculares. Las clásicas SEA, SEB, SEC (con las variantes SEC1, SEC2 y SEC3, SEC (ovina y SEC bovina)), SED y SEE se descubrieron en estudios de brotes de intoxicación alimentaria, y se clasificaron en distintos tipos serológicos; y los nuevos tipos de SE (SEG, SEH, SEI, SER, SES, SET) y SE/ (SE/J, SE/K, SE/L, SE/M, SE/N, SE/O, SE/P, SE/Q, SE/U, SE/U2 y SE/V) <sup>(6)</sup>.

La mayoría de los genes que codifican las SE son transportados y diseminados en plásmidos, bacteriófagos, islas de patogenicidad (SaPIs), grupo de genes de enterotoxinas (*egc*) y el cassette cromosómico estafilocócico (SCC), generando una transferencia horizontal entre las cepas <sup>(21)</sup> (**Tabla N°1**).

**Tabla N°1: Características de las enterotoxinas estafilocócicas**

TOXINA	CARACTERÍSTICAS GENERALES		MODO DE ACTIVIDAD	
	Peso Molecular (Da)	Base Genética	Acción Superantigénica	Acción Emética
SEA	27 100	Profago	+	+
SEB	28 336	Cromosoma, Plásmido, Isla de Patogenicidad	+	+
SEC <sub>1-2-3</sub>	27 500	Plásmido	+	+
SED	26 360	Plásmido	+	+
SEE	26 425	Profago	+	+
SEG	27 043	Grupo de Genes de Enterotoxinas ( <i>egc</i> ), Cromosoma	+	+
SHE	25 210	Transposon	+	+
SEI	24 928	<i>egc</i> , Cromosoma	+	(+)
SEIJ	28 565	Plásmido	+	Nk
SEK	25 539	Isla de Patogenicidad	+	Nk
SEIL	25 219	Isla de Patogenicidad	+	(-++)
SEIM	24 842	<i>egc</i> , Cromosoma	+	Nk
SEIN	26 067	<i>egc</i> , Cromosoma	+	Nk
SEIO	26 777	<i>egc</i> , Cromosoma	+	Nk
SEIP	26 608	Profago	+	nk\$
AEIQ	25 076	Isla de Patogenicidad	+	(-)
SER	27 049	Plásmido	+	+
SES	26 217	Plásmido	+	+
SET	22 614	Plásmido	+	(+)
SEIU	27 192	<i>egc</i> , Cromosoma	+	Nk
SEIU2	26 672	<i>egc</i> , Cromosoma	+	Nk
SEIV	24 997	<i>egc</i> , Cromosoma	+	Nk

+ Reacción positiva

(+) Reacción débil

Nk No conocida

(-++) Para SEIL, acción emética demostrada en mono *Macaca nemestrina*

nk\$ Para SEIP, acción emética demostrada en *Suncus murinus* , pero no en modelo primate

(-) Reacción negativa

(Fuente: Adaptado de Hennekinne JA y cols, 2012) <sup>(18)</sup>

## REGULACIÓN DE LA FORMACIÓN DE ENTEROTOXINAS

Las enterotoxinas del *S. aureus* se caracterizan por ser hidrosolubles y resistentes a las enzimas proteolíticas como la pepsina y tripsina. Los tratamientos térmicos no son útiles para la destrucción de las enterotoxinas debido a que tiene la capacidad de crecer y

producir enterotoxinas en una amplia gama de temperaturas, pH, concentración de cloruro de sodio y actividad del agua ( $a_w$ )<sup>(22,23)</sup> (**Tabla N°2**).

Bajo estrictas condiciones anaeróbicas, el crecimiento de *S. aureus* es más lento que cuando se cultiva aeróbicamente. La  $a_w$  en los estafilococos es de gran importancia porque estas bacterias son capaces de crecer en un rango mucho más amplio que otros patógenos ( $a_w$  mínimo de 0,83 a 0,86 y óptimo >0,99). Las condiciones de  $a_w$  para la producción SE son algo diferentes a los del crecimiento, dependiendo del tipo de toxina. La producción de SEA y SED se da bajo casi todas las condiciones  $a_w$  que permitan el crecimiento de *S. aureus*, siempre y cuando todas las demás condiciones sean óptimas. La producción de SEB es muy sensible a las reducciones de  $a_w$  y casi ninguno se produce en  $a_w = 0,93$  a pesar del extenso crecimiento. El efecto de  $a_w$  sobre la producción de SEC sigue el mismo patrón que la producción de SEB<sup>(18)</sup>.

**Tabla N°2: Factores que influyen en el crecimiento de *S. aureus* y la producción de sus enterotoxinas**

FACTOR	CRECIMIENTO ÓPTIMO DE <i>S. aureus</i>	RANGO	PRODUCCIÓN ÓPTIMA DE ENTEROTOXINAS	RANGO
Temperatura (°C)	37 °C	7-48 °C	40-45 °C	10-48 °C
pH	6 -7	4-10	7-8	4-9.6
Actividad de agua ( $a_w$ )	0,98	0,83->0,99	0,98	0,85->0,99
NaCl (%)	0	0-20	0	0-10
Potencial redox	>+200mV	<-200mV a >+200mV	>+200Mv	<-100mV a >+200mV
Atmósfera	Aerobio	Anaerobio-Aerobio	Aerobio (5-20% O <sub>2</sub> )	Anaerobio-Aerobio

(Fuente: Adaptado de Hennekinne J-A y col. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol, 2012)<sup>(18)</sup>

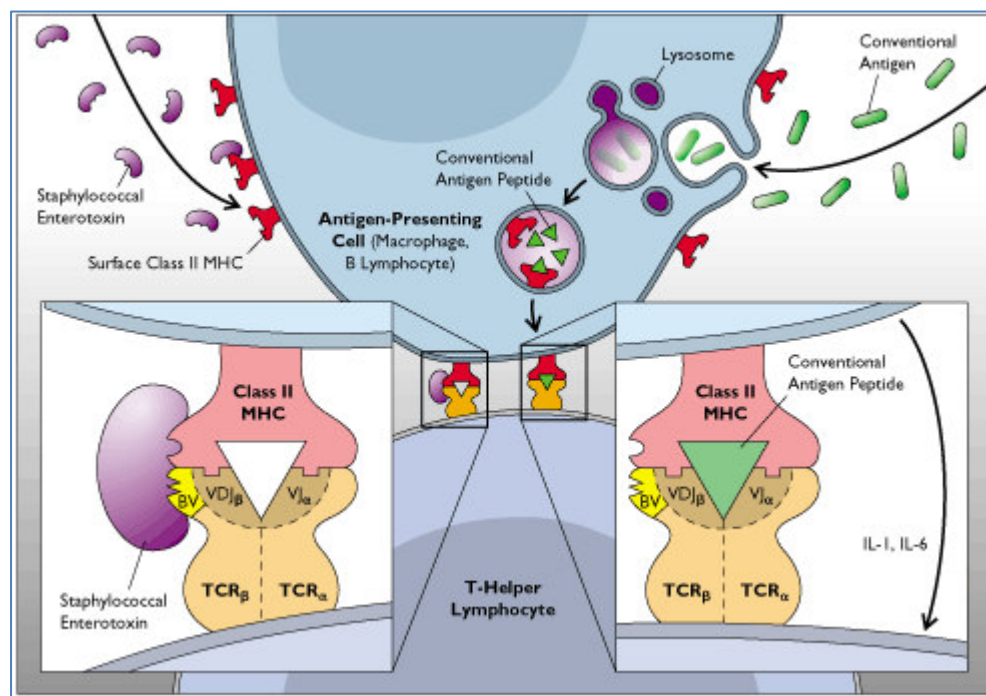
## ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS COMO SUPERANTÍGENOS

Los superantígenos difieren de los antígenos convencionales porque se acoplan a ciertas regiones del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (CMH II), externamente a la hendidura clásica de unión con el antígeno convencional, de igual manera se unen a los linfocitos T colaboradores en la cadena beta (V $\beta$ ) del receptor del linfocito T (TCR). Esta

unión genera la activación de los linfocitos T diana liberando grandes cantidades de citoquinas <sup>(24)</sup> **(Gráfico N°2).**

Los superantígenos tienen como acción final producir y liberar niveles excesivos de IL-2 por medio de los linfocitos T, que en grandes cantidades pueden llegar a nivel circulatorio y producir síntomas como náuseas, emesis y fiebre, además de un exceso en la producción de otras citoquinas (TNF- $\alpha$  y IFN- $\alpha$ ) que en situaciones muy críticas puede provocar shock, insuficiencia multiorgánica y muerte <sup>(24)</sup>.

**Gráfico N°2: Unión de un superantígeno y un antígeno convencional**



**(Fuente: Tomado de Fuego Mendoza y col, 2008) <sup>(24)</sup>**

### 3. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

Las enterotoxinas estafilocócicas son producidas por un 30-50% de *S. aureus*. La enterotoxina A se asocia con mayor frecuencia a la enfermedad; las enterotoxinas C y D se encuentran en los productos lácteos contaminados; y la enterotoxina B produce colitis pseudomembranosa estafilocócica. Estas toxinas son superantígenos capaces de inducir la activación inespecífica de los linfocitos T y la liberación de citocinas (TNF- $\alpha$  y IFN- $\alpha$ ) <sup>(25)</sup>.



Los alimentos que requieren considerable manipulación durante la preparación y que se mantienen a temperatura ligeramente elevada frecuentemente están involucrados con la presencia de *Staphylococcus* coagulasa positivo o su enterotoxina <sup>(26)</sup>.

El diagnóstico de la IAE se confirma por lo general mediante la recuperación de al menos  $10^5$  *S. aureus* por gramo de restos de alimentos o mediante la detección de enterotoxinas estafilocócicas <sup>(27)</sup>.

Las enterotoxinas estafilocócicas eran detectadas mediante inoculación intraperitoneal o endovenosa de cultivos o extracto de alimentos a animales de experimentación. Estos procedimientos eran muy costosos, no eran prácticos y, además, que incumplían las regulaciones de los comités de bioética, por lo que fueron sustituidos totalmente por métodos serológicos. En la detección serológica y cuantificación de enterotoxinas se han empleado métodos como las técnicas de anticuerpos fluorescentes, inhibición de la hemoaglutinación, doble difusión en portaobjetos, hemoaglutinación pasiva inversa y la de radioinmunoensayo <sup>(22)</sup>.

## **A) MÉTODOS INMUNOLÓGICOS**

La detección de enterotoxinas estafilocócicas se basan en inmunoensayos y tienen diferentes límites de detección. Para la detección de enterotoxina estafilocócica en alimentos se han desarrollado métodos rápidos como: Aglutinación en látex y ensayo inmunoenzimático (ELISA), que permiten detectar aproximadamente 1 ng de toxina en alimento. Los métodos inmunológicos se basan en la unión del anticuerpo (policlonal o monoclonal) con el antígeno con el fin de obtener resultados rápidos y específicos <sup>(28)</sup>.

Varios inmunoensayos se han utilizado para identificar enterotoxinas en los alimentos, siendo el más utilizado el Elisa tipo sándwich. Los reactivos están disponibles comercialmente en la forma monovalente y multivalente, es decir, tanto para la detección de toxinas como para la identificación de un serotipo específico. Otro método importante para el análisis de proteínas que todavía se utiliza es el Western Blot, que permite la discriminación de las reacciones cruzadas de proteínas heterólogas. Este método tiene ventajas sobre el Elisa en el análisis de alimentos, debido a que durante el procesamiento

de la muestra pueden aparecer agregados de proteínas que son solubilizados y separados en SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico) <sup>(29)</sup>.

## **B) MÉTODOS MOLECULARES**

La detección de enterotoxinas de *Staphylococcus* en alimentos requiere de complejidad instrumental (elevado costo) y el desarrollo metodológico inherente (dificultades operativas). Además, si las enterotoxinas se encuentran por debajo del límite de detección de los métodos inmunológicos, no se podrían detectar. Con el uso de técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se pueden superar estas dificultades. Los nuevos métodos de detección basados en la identificación de los genes codificantes muestran resultados altamente específicos <sup>(30,31)</sup>. Dentro de los métodos moleculares más utilizados tenemos:

### **REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

Es la amplificación *in vitro* de un segmento de ADN específico, que es copiado y amplificado previa delimitación con un par de oligonucleótidos <sup>(32)</sup>.

Dentro de los elementos utilizados en la reacción tenemos: ADN molde, enzima, *primers*, desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), magnesio ( $Mg^{2+}$ ), buffer y  $H_2O$ . La interacción de estos elementos se realiza en tres etapas: desnaturalización, alineamiento y extensión. Terminada la reacción los productos de amplificación son evaluados en geles de agarosa <sup>(33)</sup>.

En un estudio realizado por Suarez MJ y col, en el año 2008, se realizaron la identificación de la enterotoxina A de *S. aureus* utilizando una PCR, se resalta la importancia de la elaboración de protocolos moleculares para identificación de cepas toxigénicas <sup>(13)</sup>.

## PCR MÚLTIPLE

En la PCR Múltiple se amplifica en un mismo tubo diversas secuencias de ADN de forma simultánea, por lo que los reactivos y el programa utilizado deben ser los adecuados. Las variables, como la concentración de magnesio, cebadores, el tipo y la cantidad de ADN polimerasa, pueden ajustarse experimentalmente <sup>(34)</sup>.

Jordá GB y col, en el año 2012, identificaron las enterotoxinas estafilocócicas (A, B, C, D y E) mediante la PCR Múltiple A-B-C para la detección de los genes *sea*, *seb*, *sec1*, *sec2* y *sec3*, y otra PCR para C y D para la identificación de los genes *see*, *sed*. La PCR Múltiple permitió la detección rápida y específica de los genes de las enterotoxinas estafilocócicas <sup>(1)</sup>.

Zuta AN y col. en el año 2009, aplicaron un protocolo de PCR Multiplex para la identificación de las enterotoxinas (A, B, C, D y E) producidas por cepas de *S. aureus*. En este estudio se considera esencial la detección de las enterotoxinas estafilocócicas por PCR para uso diagnóstico y epidemiológico <sup>(22)</sup>.

## PCR A TIEMPO REAL

En esta técnica de PCR en tiempo real la amplificación y la detección se realizan de forma simultánea. Además, utilizando fluorescencia se puede cuantificar la cantidad de ADN amplificado, siendo proporcional a la emisión de fluorescencia <sup>(35)</sup>.

#### 4. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) se producen por el consumo de alimentos contaminados en proporciones necesarias para afectar la salud de los consumidores. Encontramos diferentes tipos de ETAs, que dependiendo del tipo de contaminante y la cantidad ingerida pueden presentar diversas sintomatologías. Los signos más comunes son: emesis, diarreas y fiebre <sup>(36)</sup>.

Las ETAs se dividen en infecciones e intoxicaciones. Las infecciones son producto del consumo de alimento y/o agua contaminada con bacterias, virus, hongos, parásitos que a nivel intestinal pueden multiplicarse o lisarse produciendo toxinas o pueden invadir la pared del intestino y alcanzar otros órganos. Las intoxicaciones son producto del consumo de toxinas formadas en plantas, animales o microorganismos <sup>(37)</sup>.

#### 5. MANIPULADORES DE ALIMENTOS

Son personas que laboran en contacto directo con los alimentos durante todo su proceso hasta la llegada a los comensales, las fases en las que participan los manipuladores de alimentos son: preparación, transformación, fabricación, envasado, almacenamiento, distribución, venta, suministro y servicio <sup>(38)</sup>.

La contaminación de los alimentos con *S. aureus* se asocia a los manipuladores de alimentos, el incumplimiento de reglamentos sobre prácticas de manufactura alimenticia y la utilización de materia prima contaminada <sup>(1)</sup>. Se considera a los manipuladores de alimentos la principal causa de contaminación de los alimentos por *S. aureus*, su presencia es indicativo de inadecuada manipulación <sup>(3)</sup>.

La IAE es una enfermedad auto limitante por lo que el tratamiento es básicamente la hidratación, su recuperación es en aproximadamente dos días, siendo el periodo de incubación entre 0,5 a 8 horas. La cantidad de toxina estafilocócica ingerida para causar IAE no es exacta, pero se reportan rangos entre 0,1 – 1,0 µg/kg, alcanzada a una concentración microbiana superior a 10<sup>5</sup> UFC/g <sup>(27)</sup>.

Ciertos alimentos por su composición, procesamiento o producción tienen mayor probabilidad de ser contaminados con microorganismos, siendo un riesgo potencial para los comensales. Dentro de los alimentos de mayor riesgo tenemos: Productos lácteos, carnes (pollo, pescado, cerdo), hortalizas, frutas frescas, jugos y otros <sup>(36)</sup>.

El consumo de alimentos frescos, crudos o escasamente cocinados, y en particular huevos, carnes, pescados, moluscos bivalvos y vegetales, representa un mayor riesgo microbiológico; motivo por el cual se recomienda evitar su consumo en esta condición <sup>(38)</sup>.

## **6. RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *Staphylococcus aureus***

La resistencia antibiótica es un problema de salud pública importante en muchos hospitales de todo el mundo. Las cepas de SARM son los agentes patógenos más importantes como causa de infecciones hospitalarias. Particularmente a nivel hospitalario, la transmisión de la bacteria de los pacientes al personal de salud y viceversa es determinante, ya que la colonización nasal de trabajadores de salud y pacientes normalmente precede a la infección intrahospitalaria por esta bacteria <sup>(39)</sup>.

### **6.1 RESISTENCIA A METICILINA DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) estuvo asociado al ámbito nosocomial durante muchos años, posteriormente fue apareciendo en la comunidad en cierto grupos de riesgo. La resistencia a la meticilina se encuentra mediada por la proteína ligadora de penicilina (PBP 2a), que es codificada por el gen *mecA*. La PBP 2a presenta baja afinidad por los beta-lactámicos, lo que le confiere resistencia a la meticilina. El gen *mecA* se localiza en un elemento genético móvil llamado cassette cromosómico estafilocócico (SCCmec). La distribución de la resistencia se produce de forma horizontal por la transmisión del gen *mecA* y según informes de estudios previos el porcentaje de resistencia está oscilando entre el 70 y el 87% <sup>(40,41)</sup>.

## **6.2 RESISTENCIA A MACRÓLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS B (MLS<sub>B</sub>)**

Los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B (MLS<sub>B</sub>) son antimicrobianos que presentan una estructura diferente, pero su mecanismo de acción es similar. La resistencia a los macrólidos (eritromicina, claritromicina, azitromicina, midecamicina) en *Staphylococcus* puede deberse a diversos fenotipos de sensibilidad o resistencia a lincosamidas (clindamicina). Dentro de los métodos utilizados en el laboratorio para identificar estos fenotipos de sensibilidad o resistencia tenemos: disco difusión con discos de eritromicina y clindamicina o mediante dilución en caldo <sup>(42)</sup>.

La identificación de cepas de *S. aureus* que presenten resistencia inducible a la clindamicina, se realiza fenotípicamente mediante el test de difusión de doble disco (D-test). Este método al ser comparado con el gold standard (estudio de genotipificación) presenta una alta sensibilidad y especificidad muy cercana al 100%, por lo que puede ser utilizado para la identificación de cepas con resistencia inducible a clindamicina <sup>(43)</sup>.

## **6.3 RESISTENCIA A QUINOLONA Y GLICOPÉPTIDOS**

En América Latina algunos reportes indican el incremento de la resistencia a las quinolonas en *S. aureus*, convirtiéndose en un problema de salud pública. La resistencia antibiótica ha comenzado a comprometer la utilidad de las quinolonas como agentes antiestafilocócicos. Las actividades antibacterianas de las quinolonas están comprendidas en sus actividades inhibitorias para los complejos ADN girasa y topoisomerasa IV permitiéndole bloquear la síntesis de ADN. En organismos gram positivos se ha sugerido un modelo general para la acción de la mayoría de las quinolonas indicándose que la topoisomerasa IV es el blanco primario <sup>(44)</sup>.

Dentro del tratamiento para las infecciones sistémicas por SARM, los glicopéptidos (vancomicina y teicoplanina) son las principales alternativas terapéuticas. Pero en el caso de terapia prolongada en infecciones que no comprometen la vida, se utilizan los antibióticos orales como método alternativo. En los últimos 30 años el tratamiento por SARM incluía a la vancomicina como droga de elección. Pero la aparición de cepas resistentes a vancomicina ha limitado las opciones terapéuticas convirtiéndolo en un problema clínico significativo <sup>(45)</sup>.

### 1.4.2. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS:

- ❖ **ANAEROBIO FACULTATIVO:** Microorganismo capaz de producir energía a través de la respiración aeróbica y luego cambiar a respiración anaerobia dependiendo de la cantidad de oxígeno y material fermentable en el medio ambiente <sup>(27)</sup>.
- ❖ **EMESIS:** Es la liberación brusca y espasmódica del contenido estomacal hacia la boca. También llamado vómito <sup>(27)</sup>.
- ❖ **MANIPULADOR DE ALIMENTOS:** Personas que laboran en contacto directo con los alimentos durante todo su proceso hasta la llegada a los comensales <sup>(38)</sup>.
- ❖ **MANUFACTURA:** Proceso de fabricación de un producto que se realiza con las manos o con ayuda de máquinas <sup>(28)</sup>.
- ❖ **PATOGENICIDAD:** Capacidad de un agente infeccioso de producir enfermedad a un hospedero susceptible <sup>(15)</sup>.
- ❖ **PORTADOR SANO:** Persona que aloja un agente patógeno en su organismo en ausencia de enfermedad <sup>(27)</sup>.
- ❖ **RESISTENCIA BACTERIANA:** Capacidad de una bacteria de permanecer refractaria a los efectos de un determinado antibiótico <sup>(10)</sup>.
- ❖ **SUPERANTÍGENO:** Son un grupo de proteínas virales y toxinas bacterianas que estimulan un gran número de linfocitos T uniéndose a las porciones conservadas del receptor de la célula T, dando lugar a la proliferación masiva de linfocitos T y a la liberación de citocinas <sup>(24)</sup>.
- ❖ **VIRULENCIA:** Grado de patogenicidad de un serotipo de una cepa en un hospedero susceptible <sup>(16)</sup>.

### 1.4.3. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

La frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el año 2017 es baja.

## **2. CAPÍTULO II: MÉTODOS**



## **2.1.DISEÑO METODOLÓGICO**

### **2.1.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Estudio cuantitativo de tipo descriptivo.

### **2.1.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Observacional y de corte transversal.

### **2.1.3. POBLACIÓN**

La población de estudio fue conformada por manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos que acepten participar mediante la firma del consentimiento informado.

### **2.1.4. MUESTRA Y MUESTREO**

La muestra de estudio fue conformada por manipuladores de alimentos del comedor universitario, restaurantes, cafeterías, juguerías y kioscos la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos que acepten participar y firmen el consentimiento informado.

El tipo de muestreo es no probabilístico por conveniencia.

#### **2.1.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- ❖ Trabajadores mayores de 18 años que manipulen alimentos en los restaurantes, cafeterías, juguerías, kioscos y comedor universitario de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- ❖ Trabajadores que se encuentren laborando en el establecimiento.
- ❖ Manipuladores de alimentos que acepten participar del estudio y firmen el consentimiento informado.

#### **2.1.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- ❖ Manipuladores de alimentos que se encuentren bajo tratamiento antibiótico durante la semana previa a la toma de muestra.
- ❖ Manipuladores de alimentos que presenten sintomatología de enfermedad.
- ❖ Personas que no deseen participar del estudio ni completar el cuestionario.

#### **2.1.5. VARIABLES**

Las variables en estudio son: Portadores sanos, *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico.

**(Operacionalización de variables: Anexo N°1)**

### **2.1.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se utilizó como técnica de recolección de datos la encuesta y como instrumento de recolección de datos un cuestionario aplicado de forma personal a cada manipulador de alimentos (**Anexo N°2**).

### **2.1.7. PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS**

#### **1. COORDINACIÓN INSTITUCIONAL**

Se presentó una solicitud de autorización a la Unidad de Administración de Fincas para coordinar la realización de la toma de muestras de hisopado nasal y enjuague de manos de los manipuladores de alimentos de restaurantes, cafeterías, juguerías, kioscos y comedor universitario de la Ciudad Universitaria de la UNMSM durante el mes de diciembre del año 2017 (**Anexo N°3**).

#### **2. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

**Toma muestra de mucosa nasal:** Se realizó en ambas fosas nasales, empezando por la fosa nasal derecha y terminando por la izquierda, mediante un hisopo estéril (un hisopo para ambas fosas nasales) y fueron transportadas en el medio AMIES.

**Toma de muestra de manos:** Se realizó por el “método del enjuague” (metodología recomendada en la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas RM 461-2007/MINSA) en ambas manos y fueron transportadas en un contenedor isotérmico <sup>(46)</sup>.

### 3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Las muestras de mucosa nasal fueron sembradas según los protocolos convencionales para el aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en placas de agar sangre 5% y manitol salado; después de ser incubadas en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 24-48h las colonias sospechosas fueron sometidas a observación microscópica previa coloración gram, pruebas bioquímicas: prueba de catalasa y prueba de coagulasa e identificada como *Staphylococcus aureus*.

Las muestras de enjuague de manos fueron previamente enriquecidas en caldo cerebro corazón (BHI) en proporción v/v (5 mL de caldo cerebro corazón con 5 mL de la muestra de enjuague de manos) e incubadas en condiciones aeróbicas a 37 °C durante toda la noche. Se realizó la siembra directa con un asa estéril del tubo con caldo cerebro corazón a las placas de agar manitol salado; después de ser incubadas en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 24-48h las colonias sospechosas fueron sembradas en placas de agar sangre de carnero 5% e incubadas en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 24-48h. Previa coloración gram y pruebas bioquímicas: prueba de catalasa y prueba de coagulasa la colonia es identificada como *Staphylococcus aureus*.

### 4. PERFIL DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

El test de sensibilidad a los antimicrobianos se realizó mediante el método de disco difusión, según las normativas recomendadas en la guía Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M 100 del 2018. Los discos utilizados fueron:

Penicilina (10UI), cefoxitina (30µg), gentamicina (10µg), norfloxacin (10µg), ciprofloxacina (5µg), tetraciclina (30µg), eritromicina (15µg), clindamicina (2µg), cloranfenicol (30µg), rifampicina (5µg), trimetropim/sulfametoxazol (1,25/23,75µg), nitrofurantoína (300µg).

## **5. IDENTIFICACIÓN DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS**

### **5.1. ELISA RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E**

#### **Preparación de la muestra**

1. Se incubó una colonia del cultivo bacteriano en caldo BHI a 37 °C durante 24h.
2. El caldo BHI se centrifugó a 3500g durante 5min a 10 °C.
3. Posteriormente se realizó la filtración estéril del sobrenadante bacteriano.

#### **FILTRACIÓN ESTÉRIL:**

En una cámara de flujo laminar se abrió un filtro de nitrocelulosa estéril de 0,22um de diámetro, se ajustó a una jeringa estéril sin embolo y se adicionó desde la parte superior de la jeringa 2mL del sobrenadante bacteriano, se colocó el filtro sobre un criotubo estéril y se ajustó el embolo para realizar el filtrado del sobrenadante bacteriano.

4. Se utilizó 100uL del filtrado en la prueba.

#### **Pasos del Elisa kit RIDASCREEN®**

Se realizó el Elisa siguiendo el protocolo de trabajo del kit RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E (**Anexo N°4**).

### **5.2. IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE LAS ENTEROTOXINAS**

Para la reactivación de cepas y la extracción de ADN se tomaron en cuenta los protocolos de trabajo de Manfredi EA y col.<sup>(49)</sup>

#### **Reactivación de las cepas productoras de enterotoxinas**

1. Las cepas de *Staphylococcus aureus* se reactivaron sembrándolas en Agar Tripticasa de Soya e incubándolas por 24 horas a 37 °C.
2. Se incubó cada aislamiento de *Staphylococcus aureus* en agar cerebro corazón (ACC) a 37 °C por 24h y posteriormente se realizó la incubación de una colonia en 5 mL de caldo cerebro corazón (CCC) a 37 °C por 24h.

### Extracción de ADN genómico

1. Se tomaron alícuotas de 1,5 mL de caldo cerebro corazón en tubos Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 r.p.m durante 5 minutos a una temperatura de 4 °C.
2. Posteriormente se descartó el sobrenadante y el sedimento fue resuspendido en 150 µL de buffer tritón [tritón X-100 (SIGMA, Chemical Company) al 1% en buffer TE 1X (10 mM Tris-HCl pH 8,1 mM EDTA pH 8)]. Se calienta a ebullición durante 30 minutos y luego se centrifuga a 14 000 r.p.m durante 5 minutos a una temperatura de 4 °C.
3. Se tomaron alícuotas de 2 µL del sobrenadante para ser utilizadas como ADN templado.

### Oligonucleótidos *primers* o cebadores

Los *primers* utilizados fueron propuestas por Johnson WM y col. <sup>(47)</sup> en el año 1991 y Jarraud S y col. <sup>(48)</sup> en el año 1999, se diseñaron para alinearse con las secuencias de ADN de los genes de las enterotoxinas *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*. Las secuencias de *primers* utilizados para el ADNr 16S fue reportada por Manfredi EA y col. <sup>(49)</sup> en el año 2010 (Tabla N°3).

**Tabla N°3: Cebadores (*primers*) utilizados en la PCR convencional**

TARGET	PRIMER	SECUENCIA DE PRIMER (5' - 3')	REFERENCIA
Sea	F: sea	TTGGAAACGGTAAAACGAA	Johnson WM y col. <sup>(47)</sup>
	R: sea	GAACCTTCCCATCAAAAACA	
Seb	F: seb	TCGCATCAAACCTGACAAACG	Johnson WM y col. <sup>(47)</sup>
	R: seb	GCAGGTACTCTATAAGTGCC	
Sec	F: sec	GACATAAAAGCTAGGAATTT	Johnson WM y col. <sup>(47)</sup>
	R: sec	AAATCGGATTAACATTATCC	
Sed	F: sed	CTAGTTTGGTAATATCTCCT	Johnson WM y col. <sup>(47)</sup>
	R: sed	TAATGCTATATCTTATAGGG	
See	F: see	CAAAGAAATGCTTTAAGCAATCTTAGGCCAC	Jarraud S y col. <sup>(48)</sup>
	R: see	CTTACCGCCAAAGCTG	
ADNr 16S	F: ADNr 16S	GTAGGTGGCAAGCGTTATCC	Manfredi EA y col. <sup>(49)</sup>
	R: ADNr 16S	CGCACATCAGCGTCAG	

### Preparación del master mix

La elaboración del master mix se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética del CITBM (Tabla N°4).

**Tabla N°4: Protocolo *sea* para elaboración de la Master Mix**

COMPONENTES DEL MASTER MIX	CONCENTRACIÓN INICIAL	CONCENTRACION FINAL	VOLUMEN (uL)
H <sub>2</sub> O PCR			18.4
Buffer	10X	1X	2.5
Cloruro de Magnesio (Cl <sub>2</sub> Mg)	50 mM	0.8 mM	0.4
dNTPs	10 uM	0.2 uM	0.5
Primer-F	10 uM	0.2 uM	0.5
Primer-R	10 uM	0.2 uM	0.5
Taq polimerasa	5 U/uL	1 U/uL	0.2
ADN lisis			2.0
Volumen Total			25

### Adición de ADN bacteriano

El ADN extraído mediante el buffer tritón se adicionó al master mix en el área de extracción del Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética del CITBM.

### Amplificación

La amplificación del ADN bacteriano se realizó en un termociclador de marca T100™ Bio-Rad a temperaturas y tiempos de denaturación, hibridación y extensión específicos para el gen *sea* (Tabla N°5).

**Tabla N° 5: Protocolo de amplificación *sea***

PROTOCOLO	T°	TIEMPO
Denaturación inicial	94 °C	4min
Denaturación	94 °C	1min
Hibridación	55 °C	1min
Extensión	72 °C	1min
Extensión final	72 °C	7min

### Electroforesis del producto

La separación de los productos se realizó en una cámara de electroforesis horizontal, la concentración de la agarosa fue 1,5%, el voltaje 80V y el tiempo de corrida electroforética 40 minutos.

### **2.1.8. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente trabajo fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con N° de dictamen CIEI 2017-22. Los procedimientos realizados en este estudio preservan la integridad y los derechos fundamentales de los sujetos relacionados a la investigación (**Anexo N°5**).

Se tomaron en cuenta las consideraciones éticas basadas en el consentimiento informado y la confidencialidad de los datos obtenidos (**Anexo N°6**).



### **3. CAPÍTULO III: RESULTADOS**

## RESULTADOS

### 1) PROCEDENCIA DEL CENTRO DE TRABAJO DE LOS MANIPULADORES DE ALIMENTOS

Se contó con la participación de 80 manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la UNMSM. Según el establecimiento de procedencia, los participantes en su mayoría provienen de kioscos 35 (43,75%), comedor 29 (36,25%), restaurantes 8 (10,0%) y en menor porcentaje cafeterías (6,25%), juguerías (3,75%) (Tabla N°6).

**Tabla N°6. Establecimiento de procedencia de los manipuladores de alimentos**

ESTABLECIMIENTO	N	%
COMEDOR	29	36,25
KIOSCOS	35	43,75
RESTAURANTE	8	10,0
CAFETERÍAS	5	6,25
JUGUERÍAS	3	3,75
TOTAL	80	100,0

Según la ocupación de los manipuladores de alimentos dentro del establecimiento, en su mayoría los participantes fueron cocineros 52 (65,0%), dispensadores de alimentos 24 (30,0%) y otros 4 (5,0%) (Tabla N°7).

**Tabla N°7: Ocupación de los manipuladores de alimentos**

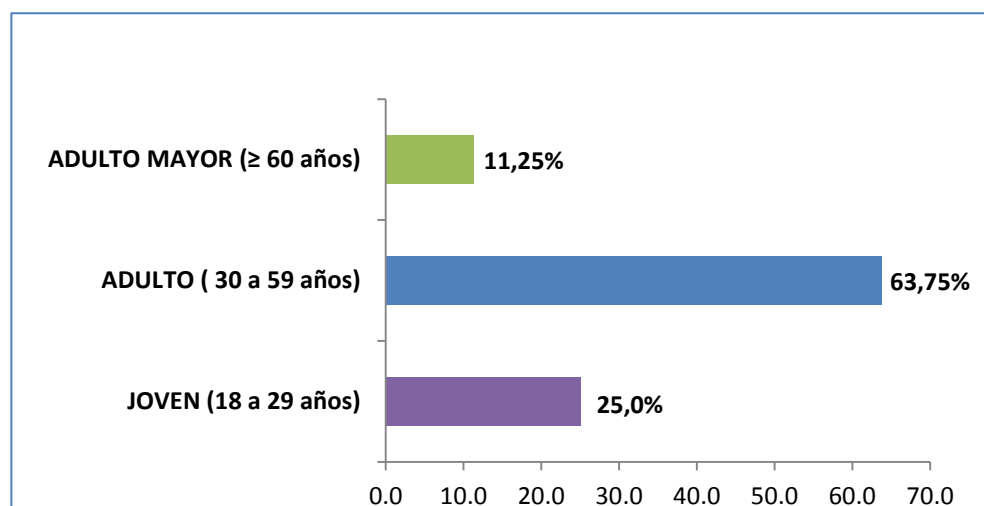
OCUPACIÓN	N	(%)
COCINERO	52	65,00
DISPENSACIÓN DE ALIMENTOS	24	30,00
OTROS	4	5,00
TOTAL	80	100

Según el sexo de los manipuladores de alimentos, la mayoría pertenece al género femenino 53 (66,25%) y en menor cantidad el género masculino 27 (33,75%) (**Gráfico N°3**).



**Gráfico N°3: Sexo de los manipuladores de alimentos (n=80)**

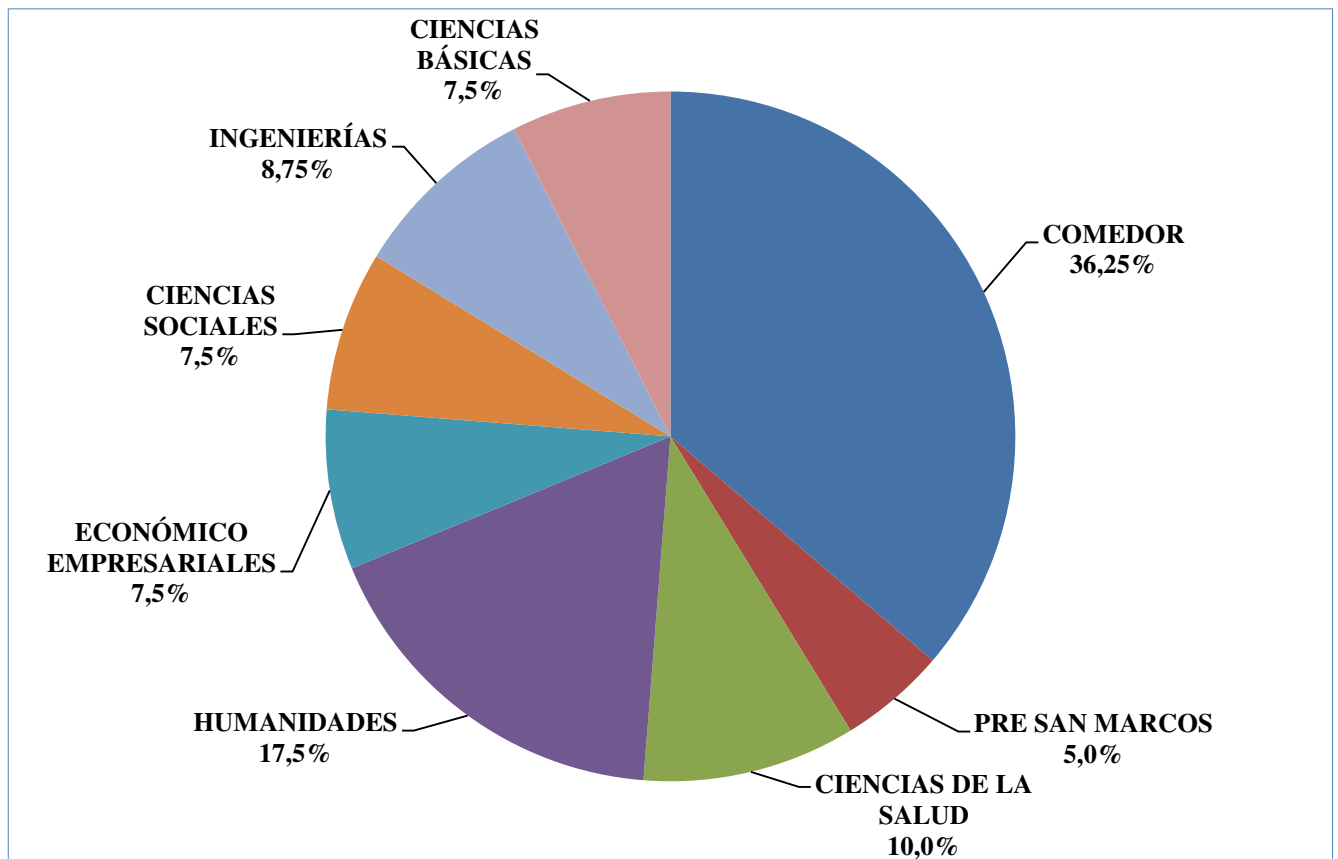
Las edades del personal manipulador de alimentos que participaron del estudio se distribuyeron en 3 grupos etarios: jóvenes (18-29 años), adultos (30-59 años) y adultos mayores ( $\geq 60$  años). En su mayoría los participantes fueron adultos 51 (63,75%), personal joven 20 (25,00%) y adulto mayor 9 (11,25%) (**Gráfico N°4**).



**Gráfico N°4: Frecuencia de edades de los manipuladores de alimentos (n=80)**

De los 80 manipuladores de alimentos se obtuvieron un total de 160 muestras (hisopado nasal y enjuague de manos), los cuales fueron distribuidos de la siguiente forma: Comedor universitario, 6 áreas académicas de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y Centro Preuniversitario.

Las muestras se obtuvieron del personal que labora en el comedor universitario 29 (36,25%) y las áreas académicas como: Humanidades 14 (17,5%), Ciencias de la Salud 8 (10,0%), Ingenierías 7 (8,75%), Ciencias Sociales 6 (7,5%), Ciencias Básicas 6 (7,5%), Económico Empresariales 6 (7,5%), Centro Preuniversitario 4 (5,0%) (Gráfico N°5).



**Gráfico N°5: Procedencia de los manipuladores de alimentos (n=80)**

## 2) FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS DE *S. aureus*

De las 160 muestras obtenidas se aislaron 146 cepas de *Staphylococcus* de las cuales 2,74% (4/146) fueron *Staphylococcus aureus* y 97,26% (142/146) corresponden a *Staphylococcus coagulasa negativo*.

La mayoría de aislamientos de *Staphylococcus* fueron de muestras de hisopado nasal, que representan el 52,05% (76/146) del total de muestras. El aislamiento de *S. aureus* que corresponde a hisopado nasal representa el 1,37% (2/146), y el porcentaje de aislamientos de *S. aureus* de las muestra de enjuague de manos representa 1,37% (2/146) del total de aislamientos (**Tabla N°8**).

**TABLA N°8: Porcentaje de aislamiento de *S. aureus* y SCN según el tipo de muestra**

TIPO DE MUESTRA	N° DE AISLAMIENTOS					
	<i>S. aureus</i>		SCN*		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
HISOPADO NASAL	2	1,37	74	50,68	76	52,05
ENJUAGUE DE MANOS	2	1,37	68	46,58	70	47,95
TOTAL	4	2,74	142	97,26	146	100,00

\*SCN (*Staphylococcus coagulasa negativo*)

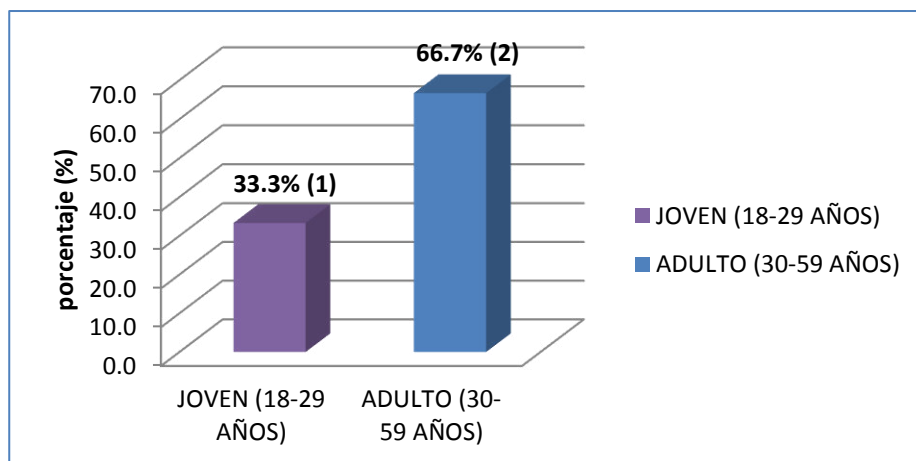
### 3) FRECUENCIA DE PORTADORES DE *S. aureus*

Del total de portadores de *S. aureus*, el sexo que presentó mayor frecuencia de portación fue el femenino 66,7% (2/3) y en menor porcentaje el masculino 33,3% (1/3) (Gráfico N°6).



**Gráfico N°6: Frecuencia de portadores de *S. aureus* según género (n=3)**

En lo que respecta al grupo etario, la mayor frecuencia de portación de *S. aureus* fueron los adultos 66,7% (2/3) y en menor porcentaje los jóvenes 33,3% (1/3) (Gráfico N°7).

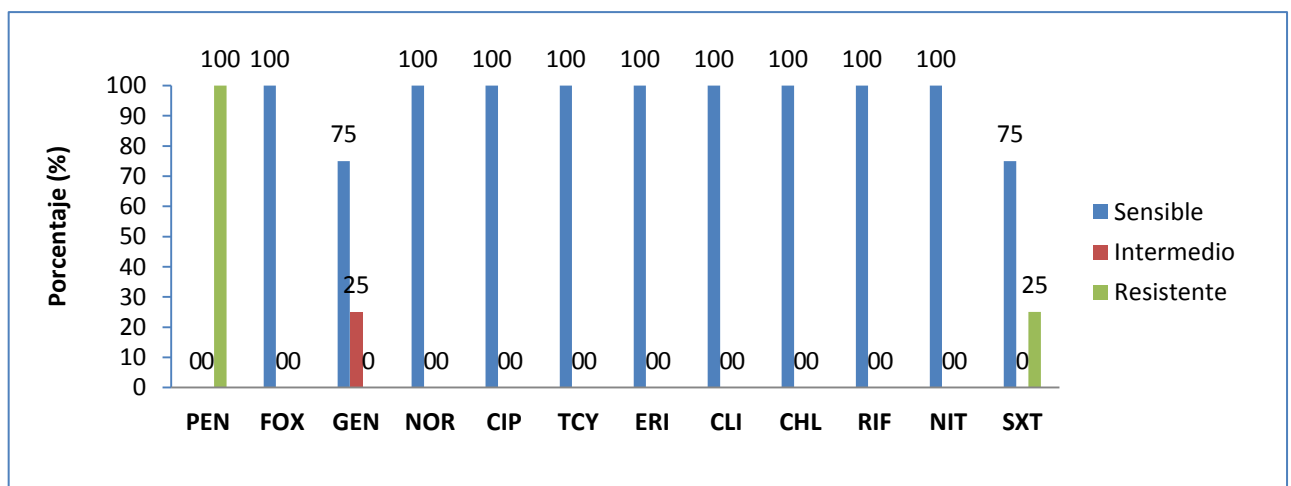


**Gráfico N°7: Frecuencia de portadores de *S. aureus* según grupo etario (n=3)**

#### 4) RESISTENCIA ANTIBIOTICA DEL *S. aureus*

Para conocer la resistencia del *S. aureus* a determinados antibióticos, se realizó el test de sensibilidad a los antimicrobianos (método de disco difusión), según las recomendaciones de la CLSI M100 del 2018. En la detección fenotípica de la resistencia inducida a clindamicina se utilizó el test de difusión de doble disco (D-test) y para detectar la resistencia a meticilina se utilizó el disco de cefoxitina.

En los aislamientos de *S. aureus* 2,74% (4/146) no se encontró resistencia inducida a clindamicina, ni resistencia a meticilina. Se presentó un 100% (4/4) de sensibilidad a eritromicina, clindamicina y meticilina. Se observó 100% (4/4) de resistencia a la penicilina, 25% (1/4) de resistencia intermedia a gentamicina y un 25% (1/4) de resistencia al trimetropim/sulfametoxazol (**Gráfico N°8**).



**Gráfico N°8: Resistencia antimicrobiana en aislamientos de *S. aureus* (n=4)**

## 5) IDENTIFICACIÓN DE LAS ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

### IDENTIFICACIÓN MEDIANTE KITT RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E.

Para el desarrollo de la prueba de ELISA sandwich se contó con controles positivos y negativos provistos por el kit y como control de calidad de la prueba se tuvo en cuenta los siguientes rangos válidos para los controles:

1. El valor de la absorbancia para el control positivo mayor o igual a 1.0
2. El valor medio de la absorbancia para los controles negativos menor o igual a 0.2

Se evaluaron mediante el kit RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E las cuatro cepas de *S. aureus* aisladas de manipuladores de alimentos para la identificación de sus enterotoxinas. Obteniendo como resultado la identificación de las enterotoxinas A, E en solo un aislamiento de *S. aureus* 25% (1/4) de mucosa nasal como se observa en la lectura de absorbancias de la cepa nasal-049 (Tabla N°9).

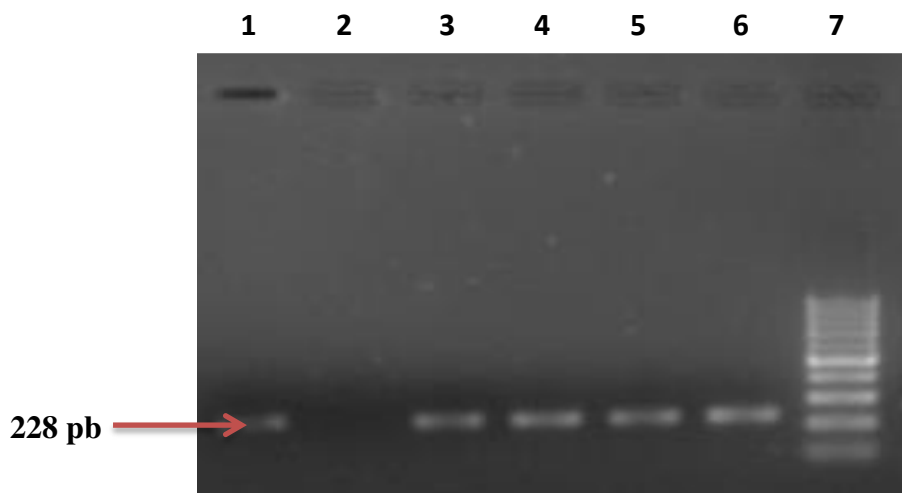
**TABLA N°9: Lectura de absorbancias para identificación de enterotoxinas mediante kit RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E.**

Enterotoxina	Longitud de onda	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Nasal-049	Manos-010	Manos-004	Nasal-010
		1	2	3	4	5
A	450nm	0.155	2.338	0.152	0.143	0.127
	630nm	0.054	0.064	0.055	0.055	0.05
	450/630	0.101	2.274	0.097	0.088	0.077
B	450nm	0.094	0.117	0.097	0.093	0.092
	630nm	0.051	0.053	0.056	0.056	0.051
	450/630	0.043	0.064	0.041	0.037	0.041
C	450nm	0.091	0.105	0.105	0.093	0.09
	630nm	0.057	0.059	0.062	0.059	0.052
	450/630	0.034	0.046	0.043	0.034	0.038
D	450nm	0.234	0.228	0.227	0.221	0.11
	630nm	0.063	0.059	0.066	0.057	0.053
	450/630	0.171	0.169	0.161	0.164	0.057
E	450nm	0.215	2.911	0.217	0.26	0.169
	630nm	0.056	0.063	0.062	0.057	0.054
	450/630	0.159	2.848	0.155	0.203	0.115
F	450nm	0.14	0.155	0.166	0.154	0.151
	630nm	0.059	0.086	0.062	0.056	0.053
	450/630	0.081	0.069	0.104	0.098	0.098
G	450nm	0.145	0.136	0.152	0.152	0.149
	630nm	0.061	0.063	0.064	0.064	0.057
	450/630	0.084	0.073	0.088	0.088	0.092
H	450nm	2.878	2.874	2.802	2.713	2.711
	630nm	0.054	0.062	0.064	0.062	0.056
	450/630	2.824	2.812	2.738	2.651	2.655
Valor umbral		0.232	0.221	0.246	0.243	0.245



## IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS ENTEROTOXINAS

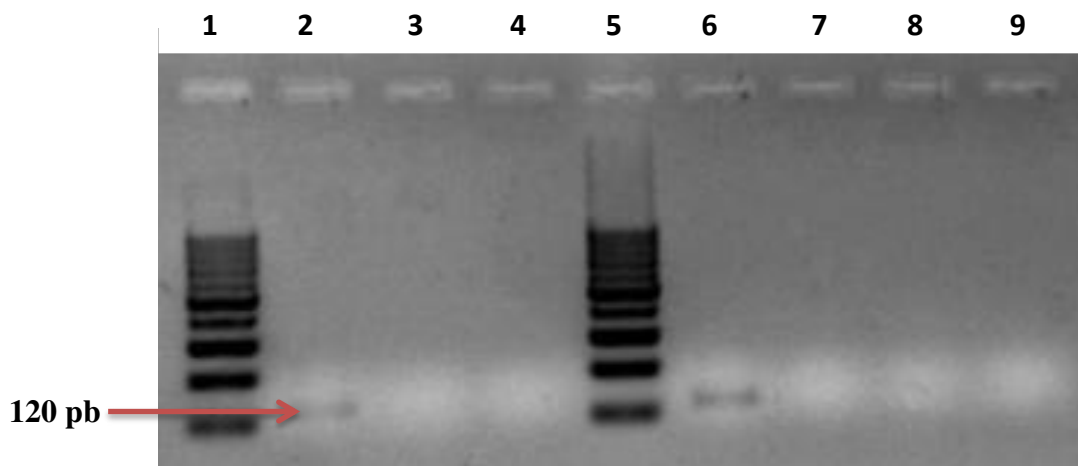
Se realizó una PCR convencional encontrándose genes productores del gen ADNr 16S en los aislamientos de *S. aureus* obtenidos (**Foto N°1**).



**Foto N°1: Producto de amplificación PCR para el gen ADNr 16S**

Carril 1: Control positivo.  
Carril 2: Control negativo.  
Carriles 3, 4, 5, 6: Portadores del gen ADNr 16S.  
Carril 7: Lader DNA 100Pb.

Posteriormente se realizó una PCR convencional encontrándose el gen *sea* como se observa en la electroforesis del aislamiento de mucosa nasal código: 049 (**Foto N°2**).



**Foto N°2: Producto de amplificación PCR para el gen *sea***

Carril 1, 5: Lader DNA 100Pb.  
Carril 2: Control positivo.  
Carril 3,4: Control negativo.  
Carril 6: Portador del gen *sea*.  
Carril 7, 8, 9: Aislamientos no portadores del gen *sea*.

## **4. CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN:

El hallazgo de portadores sanos de *S. aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos, demuestra la necesidad de contar con medidas de prevención en la higiene personal, así como, del cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura alimentaria. La norma sanitaria peruana para el funcionamiento de restaurantes y servicios afines RM N° 363-2005/MINSA indica que la administración del restaurante o servicios afines es responsable del control médico periódico de los manipuladores de alimentos que trabajan en dichos establecimientos, el cumplimiento de esta norma es importante para garantizar que no represente un riesgo de contaminación de los alimentos que manipule.

En el presente estudio el porcentaje de aislamientos de *S. aureus* que se obtuvo fue de 2,7% (4/146) y 97,3% (142/146) de *Staphylococcus* coagulasa negativos, lo cual difiere con los reportes de Mamprim FA y col. en el año 2006, donde se aislaron e identificaron 62 cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativos (75,6%) y 20 cepas de *S. aureus* (24,4%) provenientes de manos e hisopados nasales de 82 manipuladores de alimentos. La variación en la frecuencia de aislamientos puede deberse a que en nuestro estudio las muestras se tomaron de portadores sanos.

Con respecto al porcentaje de aislamientos según el tipo de muestra Grando WF y col. en el año 2008, aislaron 19 cepas de *S. aureus* de 29 manipuladores de alimentos, siendo 42,10% de las manos y 57,90% de la cavidad nasal. Lo cual es comparable con lo obtenido en el presente estudio donde se aislaron 4 cepas de *S. aureus* de 80 manipuladores de alimentos y el porcentaje de aislamiento de manos resultó 50% (2/4) y de la cavidad nasal 50% (2/4).

En el presente estudio la resistencia a los antimicrobianos es comparable a los reportes de los estudios de Martins SCS y col. en el año 2009, donde encontraron un 86,6% de resistencia a la penicilina, lo cual al igual que los resultados de nuestro estudio fueron del 100%, con respecto a la sensibilidad la nitrofurantoina 98,8% y cloranfenicol 96,3% los resultados fueron similares a los obtenidos en nuestro estudio que fueron del 100%. En lo que respecta a susceptibilidad a meticilina. Vatansever L et al. en el año 2016, reportaron un 100% de susceptibilidad a la meticilina utilizando discos de cefoxitina (30µg), que se asemeja a lo encontrado en este estudio, donde la sensibilidad a la cefoxitina fue del 100%.

Actualmente, la detección de enterotoxinas estafilocócicas se basan en métodos inmunológicos (ELISA) y moleculares (PCR). La principal limitante de los métodos inmunológicos sería el límite de detección, si los niveles en que las enterotoxinas sintetizadas se encuentran por debajo del límite de detección de los métodos inmunológicos no se podrían detectar, en cambio los métodos basados en la identificación de genes que codifican enterotoxinas superan estas dificultades y brindan resultados específicos.

La detección de enterotoxinas estafilocócicas para nuestro estudio se realizó mediante una prueba de Elisa tipo sandwich y una PCR convencional, detectando mediante el ELISA la presencia de las enterotoxinas A, E para una cepa aislada de mucosa nasal, y mediante la PCR convencional se identificó el gen *sea* en la misma muestra. Esto puede deberse a una reacción cruzada entre la enterotoxina A, E que según las especificaciones del kit RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E el porcentaje de reactividad cruzada varía entre 10-50%.

La frecuencia de portadores sanos de *S. aureus* enterotoxigénico fue del 1,3% (1/80), y la presencia del gen *sea* se encontró en un 25% (1/4) de los aislamientos y no se detectó la producción de la enterotoxinas SEB, SEC, SED, SEE, lo cual es semejante

a lo encontrado en otros estudios en Sudamérica donde el gen *sea* es la más frecuente. Manfredi EA y col. reportan la presencia del gen *sea* en el 55,7% de sus aislamientos y Mamprim FA y col. en el año 2006, reportaron presencia del gen *sea* en el 35,4% de aislamientos.

En este estudio, existió limitación debido a la falta de colaboración por parte del personal manipulador de alimentos ante la invitación de participar en el estudio debido al temor de recibir alguna sanción. Por ello, se realizó una previa charla informativa con los dueños de los locales para concientizarlos sobre la importancia de la investigación y como prevenir futuras intoxicaciones alimentarias sin perjudicar al personal.

## **5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. CONCLUSIONES

- ❖ La frecuencia de portadores sanos de *S. aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Marcos es baja (1,3%).
- ❖ La frecuencia de aislamientos de manos y mucosa nasal fue similar, los aislamientos de *S. aureus* de las muestras de manos fueron del 1,37% (2/146) y la frecuencia de aislamiento de *S. aureus* de mucosa nasal 1,37% (2/146).
- ❖ Las enterotoxinas detectadas mediante la técnica de Elisa fueron A, E. Mediante PCR convencional se identificó solamente el gen *sea* que codifica la expresión de la enterotoxina A.

## 5.2. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar estudios similares con otras poblaciones, ya que la frecuencia puede variar al realizarse en una población diferente.
- ❖ Realizar el estudio a manipuladores de alimentos sintomáticos y sanos, y evaluar la frecuencia de portación de *S. aureus*.
- ❖ Para posteriores estudios se recomienda evaluar la presencia de enterotoxinas estafilocócicas en *Staphylococcus* coagulasa negativos.
- ❖ Educar y concientizar a los manipuladores de alimentos sobre las medidas de higiene personal y la correcta manipulación de alimentos, para evitar la contaminación con *S. aureus* como un riesgo hacia la población.



## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jordá GB, Marucci RS, Guida AM, Pires PS, Manfredi EA. Portación y caracterización de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. Rev Argent Microbiol. junio de 2012; 44(2):101-4.
2. Borraz Ordás CM. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de «*Staphylococcus aureus*» aisladas en hospitales españoles. [Tesis]. Barcelona. Universidad de Barcelona, Facultad de Medicina; 2006.
3. Anchón Fabrizio F, Cabral Leilah P, Walde Jeanette L. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos del Mercado N° 4 de Asunción, Paraguay. Rev. Anacem. 2006; Vol.6 n°1.
4. Figueroa G G, Navarrete W P, Caro C M, Troncoso H M, Faúndez Z G. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. Rev Médica Chile. agosto de 2002;130(8):859-64.
5. Specht V, H M, Quiroga Zingaretti A, Grenon SL. Perfiles de resistencia a los antibióticos y portación del gen sea en aislamientos de *Staphylococcus aureus* de origen ambiental en Posadas, Misiones. Rev Cienc Tecnol. diciembre de 2013;(20):61-7.
6. Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR. Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. Toxins. 5 de julio de 2010; 2(7):1751-73.
7. Mamprim Filho A. Pesquisa de genes responsáveis pela produção de enterotoxinas a partir de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva e negativa isoladas das fossas nasais e mãos de manipuladores de alimentos.[Tesis].Botacu: Universidad Estatal Paulista, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2006.
8. Grando WF, Scapin D, Malheiros P da S, Rossi EM, Tondo EC. Suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de manipuladores de industria de laticínios. Aliment E Nutr. 2008; 19(4):467-71.

9. Martins SCS, Martins CM, Albuquerque LMB, Fonteles TV, Rego SLD, Junior GDSF. Perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de manipuladores de alimentos. Rev. Bol Cent Pesqui Process Aliment. 2009; 27 (1): p. 43-52.
10. Pérez-Cano HJ, Robles-Contreras A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Rev Médica MD. 2013; 4.5 (3):186-91.
11. Puig Peña Y, Espino Hernández M, Leyva Castillo V, Apórtela López N, Pérez Muñoz Y, Soto Rodríguez P. Resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus* coagulasa positiva aisladas en alimentos y manipuladores. Rev Cuba Aliment Nutr. 28 de diciembre de 2015; 25(2):245-60.
12. Vatansever L, Sezer Ç, Bilge N. Carriage rate and methicillin resistance of *Staphylococcus aureus* in food handlers in Kars City, Turkey. SpringerPlus. 2016; 5:608.
13. Suárez MJ, Arias ML, Gamboa MM. Detección de la enterotoxina A de *Staphylococcus aureus* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su correlación con las pruebas de coagulasa y termonucleasa. Arch Latinoam Nutr 2008; 58: 59-63.
14. Gyimesy R, Felipe L. Incidencia de *Staphylococcus aureus* en platos fríos listos para el consumo en locales de comida italiana y medidas para su control. [Tesis].Chile: Universidad Nacional de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química; 2007.
15. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clínica Med Lab. 2014; 61(1):28-40.
16. Bustos M, Hamdan A, Gutierrez C. *Staphylococcus aureus*: La reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed 2006; 17:287-305.

17. Zendejas Manzo G, Avalos Flores H, Soto Padilla M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad, métodos de identificación. Rev Biomed 2014; 25:129-143.
18. Hennekinne J-A, De Buyser M-L, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Rev. 1 de julio de 2012; 36(4):815-36.
19. Brizzio AA. Aplicación de una reacción de PCR-Multiplex para la identificación de cepas de *Staphylococcus aureus* toxigénicas. [Tesis]. Argentina: Universidad de San Martín. Facultad de Microbiología Molecular; 2009.
20. Adam R. Spaulding, Wilmar Salgado Pabón. Staphylococcal and Streptococcal Superantigen Exotoxins. Rev. Clinical Microbiology Reviews. 2013, 26 (3):422–447.
21. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal Enterotoxins. Toxins. 18 de agosto de 2010; 2(8):2177-97.
22. Zuta Arriola N. Aplicación de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la detección de enterotoxinas en *Staphylococcus aureus* aislados de alimentos en la ciudad de Lima. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2009.
23. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC, Rådström P. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence. diciembre de 2011; 2(6):580-92.
24. Fueyo Mendoza JM. Frecuencia y tipos de toxinas superantígenos en *Staphylococcus aureus* de diferentes orígenes: relaciones con tipos genéticos. [Tesis]. España: Universidad de Oviedo. Departamento de Biología Funcional; 2005.
25. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología Médica. 7<sup>a</sup> ed. Madrid. Editorial Elsevier, 2012.

26. Venegas LM, Gonzales GL, Martínez LA, Buitrago F. Aislamiento y caracterización de cepas de *Staphylococcus* enterotoxigénicos aislados de quesos en Bogotá. Rev MVZ Córdoba. 2008; 13(2):1288-93.
27. Ministerio de Salud y Protección Social, Instituto Nacional de salud. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. [internet]. 2011. [Citado 11 de junio de 2017]. Disponible en: <http://docplayer.es/1173368-Evaluacion-de-riesgos-de-staphylococcus-aureus-enterotoxigenico-en-alimentos-preparados-no-industriales-en-colombia.html>.
28. Jo León A. Detección de las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* en alimentos de las cafeterías de la Universidad de San Carlos de Guatemala. [Tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia; 2005.
29. Ribeiro Pimenta M. Métodos de Análises Rápidas para Detecção de Enterotoxinas Estafilocócicas em Alimentos. [Internet]. 2013 [Citado 11 de junio de 2017]; Disponible en: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/982058/1/DOC13013.pdf>.
30. Brizzio AA, Tedeschi FA, Zalazar FE. Estrategia de PCR múltiple para la caracterización molecular simultánea de *Staphylococcus aureus* y enterotoxinas estafilocócicas en aislamientos de brotes de origen alimentario. Biomédica. Marzo 2013;33(1):122-7.
31. Terrazas LP. Detección de genes de las Enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* en quesos tipo Chihuahua por PCR. Rev de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. 2004; 5: 2004.
32. Ministerio de Salud, Instituto de Salud Pública de Chile. Recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa PCR: Áreas y flujos de trabajo [Internet]. 14 de enero del 2013 [Citado 23 de junio de 2017]. Disponible en: <http://www.ispch.cl/documento/19195>.

33. Tumay de DL, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investig En Discapac*. 2013;2(2):70-8.
34. Méndez Álvarez S, Pérez Roth E. Multiplex PCR in Clinical Microbiology. *Rev. Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22 (3):183-92.
35. Costa J. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22 (5):299-305.
36. Kopper G, Calderon G, Schneider S, Domínguez W, Gutiérrez G. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico: Estudios de caso en Costa Rica: FAO, 2009.
37. Ospina M, Martínez D, Eduardo P. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Instituto Nacional de Salud. República de Colombia. 2016.
38. Malo Mateo M. Manual para la Formación de Manipuladores de alimentos. [Internet]. 2009 [Citado 11 de junio de 2017]. Disponible en: <http://saludcantabria.es/uploads/pdf/profesionales/Libro%20Manual%20para%20la%20Formaci%C3%B3n%20de%20Manipuladores.pdf>.
39. Cáceres M. Frecuencia de portadores nasales de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personal de salud de hospitales de Nicaragua. *Rev Panam Salud Publica*. 2011; 30(6):610–614.
40. Fosch S, Yones C, Trossero M, Grosso O, Nepote A. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoam*. marzo de 2012; 46(1):59-68.
41. Bermejo V, Spadaccini L, Elbert R, Duarte A, Erbin M, Cahn P. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en infecciones de piel y partes blandas en pacientes ambulatorios. *Rev. MEDICINA*. 2012; 72 (4): 283-286.

42. Ardanuy C, Cercenado E. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en grampositivos. [Internet]. 2011 [Citado 11 de junio de 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia39.pdf>.
43. Montoya C I, Mira O M, Álvarez A I, Cofre G J, Cohen V J, Donoso W G, et al. Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Rev Chil Pediatría. febrero de 2009; 80(1):48-53.
44. Luján Daniel A, Málaga Jesús E. Resistencia a quinolonas en aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*. Rev. Perspect Médicas. 2014; 25 (3): 48-50.
45. Castellano González M, Perozo Mena A. Mecanismos de resistencia a Glicopéptidos en *Staphylococcus aureus*. Rev. Kasmera. 2010; 38 (1): 36-44.
46. Ministerio de Salud. Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. [internet]. 2007. [Citado 11 de junio de 2007]. Disponible en: [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM\\_461\\_2007.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM_461_2007.pdf).
47. Johnson W M, Tyler S D, Ewan E P. Detection of Genes for Enterotoxins, Exfoliative Toxins, and Toxic Shock Syndrome Toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the Polymerase Chain Reaction. Journal of Clinical Microbiology, Mar. 1991, p. 426-430.
48. Jarraud S, Cozon G, Vandenesch F. Involvement of Enterotoxins G and I in Staphylococcal Toxic Shock Syndrome and Staphylococcal Scarlet Fever. Journal of Clinical Microbiology, Aug. 1999, p. 2446-2449.
49. Manfredi EA, Leotta G A, Rivas M. PCR múltiple para la detección de los genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed* y *see* de *Staphylococcus aureus*. Caracterización de aislamientos de origen alimentario. Revista Argentina de Microbiología. 2010; 42: 212-215.

## **7. ANEXOS**

**ANEXO N°1:** Operacionalización de variables.

**ANEXO N°2:** Cuestionario a los manipuladores de alimentos.

**ANEXO N°3:** Autorización de la Unidad de Fincas.

**ANEXO N°4:** Pasos del ELISA RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E.

**ANEXO N°5:** Dictamen de aprobación del comité de ética del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión”.

**ANEXO N°6:** Consentimiento informado.

## ANEXO N°1

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES					
VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	PUNTOS DE CORTE	ESCALA DE MEDICIÓN
<b>Portador sano de <i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxigénico</b>	Individuo que aloja en su organismo cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> que expresan genes productores de enterotoxinas, pero que no producen ninguna sintomatología.	Estado clínico	Asintomático	Sintomático	Cualitativo Nominal
				Asintomático	Cualitativo Nominal
		Aislamiento microbiológico	UFC (unidades formadoras de colonias)	Presente	Cualitativo Nominal
				No presente	Cualitativo Nominal
		Detección de la enterotoxina	Reacción en kit RIDASCREEN®	Positivo	Cualitativo Nominal
			Expresión de genes de las enterotoxinas	Expresión del gen No expresión del gen	Cualitativo Nominal



## ANEXO N°2

### CUESTIONARIO PARA EL PARTICIPANTE

#### I. INFORMACIÓN GENERAL:

- Nombre del establecimiento: ..... Fecha: ..... Código: .....

- Nombre de la Facultad: ..... N° de Teléfono: .....

- Tipo de establecimiento: Comedor ( ) Restaurante ( ) Cafetería ( )

- Sexo: F ( ) M ( ) Edad: ..... años

- Tipo de muestra: Hisopado de manos ( ) Hisopado Nasal ( )

- Distrito de residencia: .....

Residencial ( ) Urbanización ( ) Asociación de vivienda ( ) AA.HH

- Rol en el trabajo:

Cocinero ( ) Azafata ( ) Cajero ( )

Mozo ( ) Lava vajilla ( ) Otros, especifique: .....

#### II. PREGUNTAS:

1. ¿Ha presentado lesiones (Heridas, ampollas, cortaduras) en la piel, durante la última semana?

Sí ( ) No ( )

Si la respuesta es Sí. Especifique el lugar de la lesión:

Mano ( ) Nariz ( ) Cara ( ) Pierna ( ) Otros, especifique: .....

2. ¿Presenta alguno de los siguientes signos o síntomas?

Dolor de garganta ( ) Tos ( ) Fiebre ( ) Diarrea ( ) Náuseas ( ) Vómitos ( )  
Ninguno ( )

3. ¿Durante la última semana ha consumido antibióticos?

Sí ( ) No ( )

Si la respuesta es Sí. Especifique que tipo de antibiótico(s) se encuentra consumiendo: .....

4. ¿Cuántas personas viven en tu hogar?

.....

5. ¿Cuántas veces al día realiza su lavado de manos?

.....

**6. ¿Con respecto a su higiene personal. A qué actividad (es) le da mayor importancia? (Puede marcar más de una alternativa)**

Lavado de manos ( ) Lavado de cara ( ) Corte de cabello ( ) Corte de uñas ( )  
Todas ( )

**7. ¿En qué situación(es) Ud. Realiza su lavado las manos? (Puede marcar más de una alternativa).**

Antes del trabajo ( ) Durante su trabajo ( ) Después del trabajo ( ) En ninguna situación ( )

**8. ¿Con qué frecuencia se lava las manos?**

Nunca ( ) muy pocas veces ( ) Algunas veces ( ) Casi siempre ( )  
Siempre ( )

**9. ¿Con qué indumentaria cuenta para la preparación y servicio de los alimentos? (Puede marcar más de una alternativa).**

Mandil ( ) Guantes ( ) Mascarilla ( ) Gorro ( ) No cuenta con indumentaria ( )

**10. ¿En qué situación (es) Ud. Utiliza la indumentaria?**

Cuando se lo piden ( ) Cuando no manipula alimentos ( ) Durante la manipulación de alimentos ( ) Durante todo el tiempo ( )

**11. ¿Ha frecuentado alguno de estos lugares, en los últimos 6 meses? (Puede marcar más de una alternativa).**

Hospitales ( ) Clínicas ( ) Asilos ( ) Cárcel ( ) Ninguno ( )

**12. ¿Comparte toallas, artículos de aseo personal, ropa?**

Nunca ( ) muy pocas veces ( ) Algunas veces ( ) Casi siempre ( )  
Siempre ( )

**13. ¿Utilizas o has portado pearcing?**

Sí ( ) No ( )

**14. ¿Tiene contacto con mascotas o animales?**

Sí ( ) No ( )

Si la respuesta es Sí. Especifique cuales: (Puede marcar más de una alternativa).

Perro ( ) Gato ( ) Cerdo ( ) Caballo ( ) Otros, especifique: .....

**15. ¿Ha cuántas personas atiendes diariamente?**

.....

**16. ¿El establecimiento donde trabaja cuenta con los servicios necesarios para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos?**


Sí ( )      No ( )

Si la respuesta es Sí. Especifique cuales: (Puede marcar más de una alternativa).

Agua potable ( ) Servicio eléctrico ( ) Baño limpio ( ) Depósitos de basura ( )  
Todas ( )

## ANEXO N°3

N° 01  
FOLIO  
U.N.M.S.



### Universidad Nacional Mayor de San Marcos

(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)

#### UNIDAD DE ADMINISTRACION DE FINCAS

CARGO

**OFICIO N° 1034 /UAF - DGA/2017**

Ciudad Universitaria, 05 de diciembre del 2017

Sr.:  
**DAVID GUARDIA CAJA**  
Jefe de la Oficina General de Bienestar Universitario  
Presente.-

UNMSM  
Oficina General de Bienestar Universitario

**MESA DE PARTES**

Fecha: **06 DIC 2017**

Hora: **11:39 am**

Firma: *[Firma]*

**ASUNTO:** AUTORIZACIÓN DE PROYECTO: TOMA DE MUESTRAS DE MUCOSA NASAL Y MANOS DEL PERSONAL MANIPULADOR DE ALIMENTOS

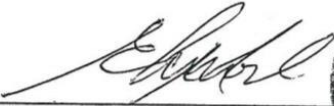
De mi consideración:

Por intermedio del presente me dirijo a Usted para saludarlo y a la vez de acuerdo al asunto de la referencia, COMUNICARLE que esta Unidad de Administración de Fincas ha autorizado al alumno de laboratorio Clínico y Anatomía Patológica Wilder Heysen Gonzales Tume, quien desarrollara su proyecto de tesis titulado " Portadores sanos de STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOXIGENICO en manipuladores de alimentos en la Ciudad Universitaria de la UNMSM; aprobado por Resolución de decanato N° 2447-D-FM-2017.


SE realizara como parte de la ejecución del proyecto de tesis LA TOMA DE MUESTRAS DE MUCOSA NASAL Y MANOS DEL PERSONAL MANIPULADOR DE ALIMENTOS DE LAS CAFETERIAS Y RESTAURANTES DE LA CIUDAD UNIVERSITARIA; durante el mes de diciembre del presente año en el horario de 08:00 a 20:00 horas.

Sin otro particular, me despido de usted cordialmente no sin antes reiterándole las consideraciones de mi mayor estima personal.

Atentamente,



**Abog. ENRIQUE RIVAS CASTRO**  
Jefe de la Unidad de Administración de Fincas

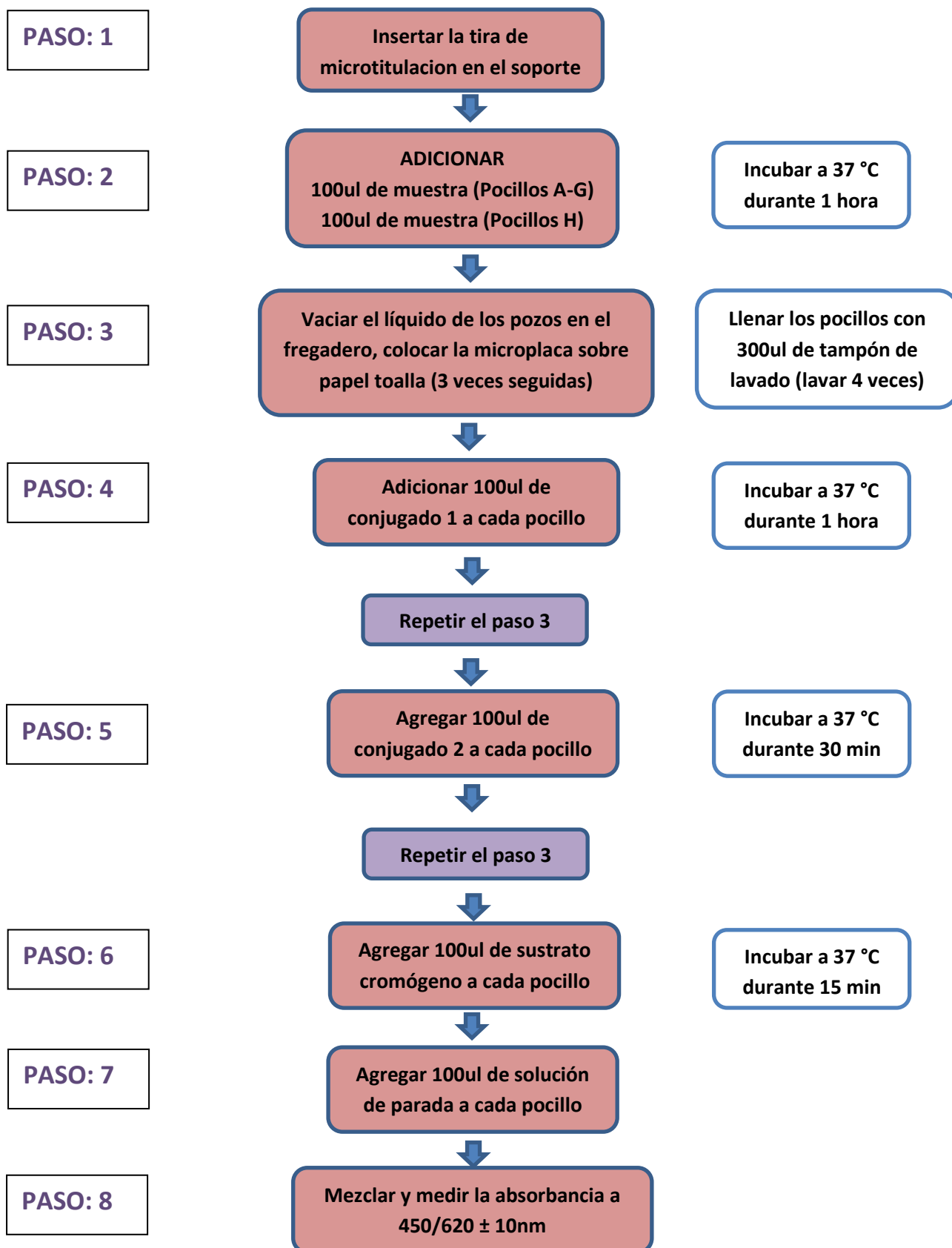


Calle German Amezaga 375- Ciudad Universitaria

Teléfono: 6197000 anexo 7513

## ANEXO N°4

### PASOS DEL ELISA RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E



## ANEXO N°5



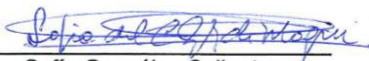
**Comité Institucional de Ética en Investigación  
IMT "DAC" UNMSM  
Constancia de Aprobación  
CIEI-2017-022**

A los 28 días del mes de noviembre del año 2017, el **Comité Institucional de Ética en Investigación** del **Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión"** de la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos** aprobó el proyecto de investigación intitulado *Portadores sanos de Staphylococcus aureus enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017*. Dicha investigación, que tiene como Investigador Principal (IP) al señor Wilder Heysen Gonzales Tume, identificado con D.N.I. N° 45961633, fue aprobada bajo los siguientes términos:

- Modalidad de revisión: Revisión Expedita
- La aprobación del CIEI – IMT "DAC" UNMSM es por un año, contados a partir de la emisión de la presente constancia (28/11/2017– 28/11/2018).
- El protocolo de investigación, los formatos de consentimiento informado y demás documentos relativos a la investigación sellados por el CIEI – IMT "DAC" se encuentran adjuntos a la presente constancia de aprobación y serán también enviados al correo electrónico del Investigador Principal ([WILI\\_2011@HOTMAIL.COM](mailto:WILI_2011@HOTMAIL.COM)).
- Se ha comprobado que la investigación no implica riesgo para los participantes del estudio y que respeta los principios éticos relativos a la buena praxis del investigador.

Lima, 28 de noviembre del 2017

Revisora: M.C. Sofía González Collantes

  
Sofía González Collantes  
Presidenta



Constancia de aprobación CIEI-2017-0XX  
CIEI - IMT "DAC" UNMSM – XX/XX/201X

1/1

## ANEXO N°6

### CONSENTIMIENTO INFORMADO



#### **Portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017**



**Tesista:** Bach. Gonzales Tume Wilder Heysen

**Propósito de la investigación:** Conocer la frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **Requisitos de Participación:**

- ❖ Ser trabajadores mayores de 18 años que manipulen alimentos en el comedor universitario, restaurantes y cafeterías de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- ❖ Encontrarse laborando en el establecimiento.
- ❖ Aceptar y firmar el Consentimiento informado.

#### **Riesgos del estudio:**

El estudio no representa ningún riesgo para el participante.

#### **Costos de la Participación:**

La participación en el estudio no tiene ningún costo para el participante.

#### **Beneficios de participación:**

Obtener información necesaria para determinar la frecuencia de portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos, como una

contribución al establecimiento de medidas de prevención, control y reducción de costos en salud.

**Confidencialidad del estudio:**

Toda la información obtenida en el estudio se manejará de forma completamente confidencial, solamente los investigadores conocerán los resultados y la información. Se le asignará un número (Código) a cada uno de los participantes, y este número se utilizará para el análisis, presentación de resultados, publicaciones, etc. Con esto ninguna persona ajena a la investigación podrá conocer los nombres de los participantes.

**Resultados de la investigación:**

Los investigadores informaremos a los participantes los resultados de la investigación de forma individual.

**Donde y con quien conseguir información (persona de contacto):**

Para cualquier consulta, queja o comentario por favor comunicarse con Wilder Heysen Gonzales Tume, al correo electrónico: WILI\_2011@HOTMAIL.COM, número de celular: 957323998, Dirección: Mz M-9 LT-10 S.S Juan Pablo II. San Juan de Lurigancho, donde con mucho gusto se le responderá cualquier duda.

Al aceptar la participación deberá firmar este documento llamado consentimiento informado, con lo cual autoriza y acepta la participación en el estudio voluntariamente. Sin embargo, si usted no desea participar el estudio por cualquier razón, puede retirarse con toda libertad sin que esto represente algún gasto, pago o consecuencia negativa por hacerlo.



## DECLARACIÓN VOLUNTARIA

Yo ..... he sido informado(a) del objetivo del estudio, he conocido los riesgos, beneficios y la confidencialidad de la información obtenida. Entiendo que la participación en el estudio es gratuita. He sido informado(a) de la forma de cómo se realizará el estudio y de cómo se tomarán los hisopados de la mucosa nasal y enjuague de manos. Estoy enterado(a) también que de participar, puedo o no continuar en el estudio en el momento en el que lo considere necesario, o por alguna razón específica, sin que esto represente que tenga que pagar, o recibir alguna represalia de parte del investigador, o de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Por lo anterior, acepto voluntariamente participar en la investigación de:

**Portadores sanos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en manipuladores de alimentos de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017**

**Fecha:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/2017

\_\_\_\_\_  
**Firma del participante**

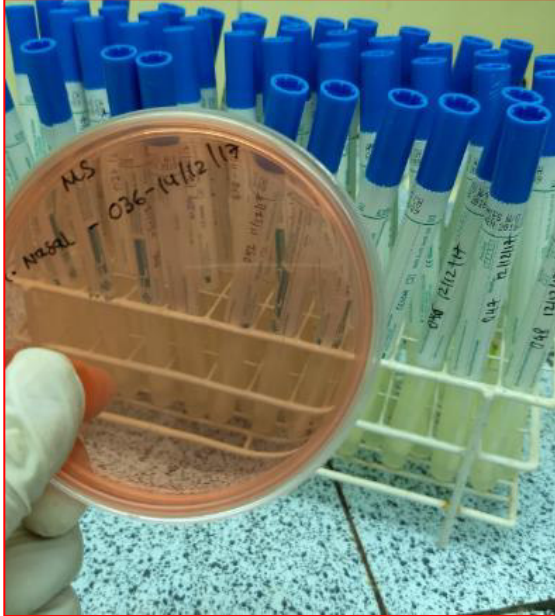
## FOTOGRAFÍAS

### 1. Toma de muestra de mucosa nasal y enjuague de manos

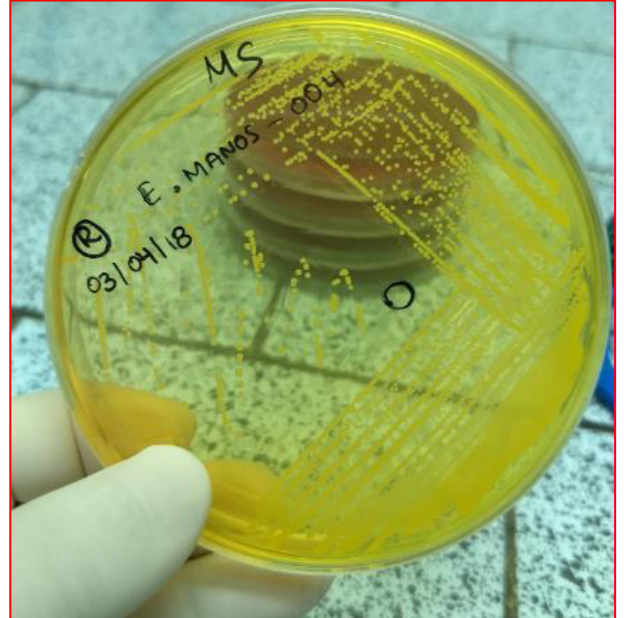


## 2. Siembra e Identificación de *Staphylococcus aureus*

### A. Siembra de hisopados nasales en agar manitol salado



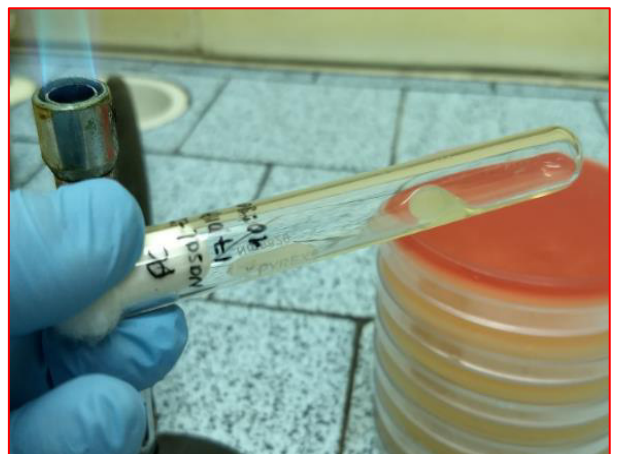
### B. Cepas manita positivas en placa de agar manitol salado



### D. Agar sangre 5% (β- hemólisis)

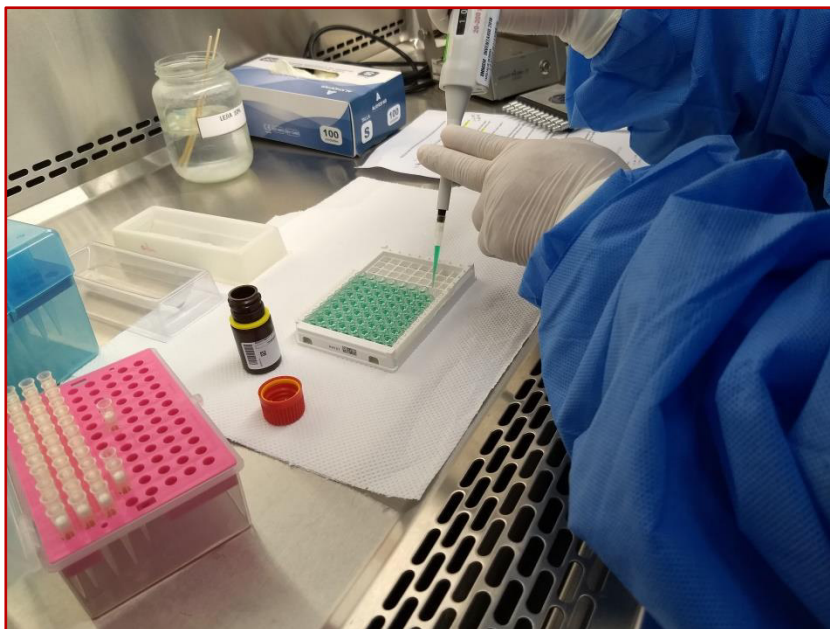


### C. Prueba de coagulasa en tubo (coagulasa positivo)



### 3. Identificación de enterotoxinas estafilocócicas

#### A. Elisa tipo sandwich con el kit RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E.



#### A. PCR CONVENCIONAL PARA DETECCIÓN DE ENTEROTOXINAS

